



TESIS TK142541

**BIODIESEL DARI LIPID YANG DIEKSTRAK PADA
MIKROALGA BASAH MENGGUNAKAN METODE
EKSTRAKSI DIMETIL ETER**

JAMIUS BIN STEPANUS
02211550012006

DOSEN PEMBIMBING
Prof. Dr. Ir. Sugeng Winardi, M.Eng
Dr. Siti Machmudah, ST., M.Eng

PROGRAM MAGISTER
BIDANG KEAHLIAN TEKNOLOGI PROSES
DEPARTEMEN TEKNIK KIMIA
FAKULTAS TEKNOLOGI INDUSTRI
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER
SURABAYA
2018



TESIS TK142541

**BIODIESEL DARI LIPID YANG DIEKSTRAK PADA
MIKROALGA BASAH MENGGUNAKAN METODE
EKSTRAKSI DIMETIL ETER**

JAMIUS BIN STEPANUS
02211550012006

DOSEN PEMBIMBING
Prof. Dr. Ir. Sugeng Winardi, M.Eng
Dr. Siti Machmudah, ST., M.Eng

PROGRAM MAGISTER
BIDANG KEAHLIAN TEKNOLOGI PROSES
DEPARTEMEN TEKNIK KIMIA
FAKULTAS TEKNOLOGI INDUSTRI
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER
SURABAYA
2018



THESIS TK142541

**BIODIESEL FROM LIPID EXTRACTED VIA
WET MICROALGAE USING DIMETHYL ETHER
EXTRACTION METHOD**

**JAMIUS BIN STEPANUS
02211550012006**

**SUPERVISOR
Prof. Dr. Ir. Sugeng Winardi, M.Eng
Dr. Siti Machmudah, ST., M.Eng**

**MASTER PROGRAM
PROCESS TECHNOLOGY
CHEMICAL ENGINEERING DEPARTMENT
FACULTY OF INDUSTRIAL TECHNOLOGY
SEPULUH NOPEMBER INSTITUTE OF TECHNOLOGY
SURABAYA
2018**

LEMBAR PENGESAHAN TESIS

BIODIESEL DARI LIPID YANG DIEKSTRAK PADA MIKROALGA BASAH MENGGUNAKAN METODE EKSTRAKSI DIMETIL ETER

Tesis ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat memperoleh gelar
Magister Teknik (MT)
di

Institut Teknologi Sepuluh Nopember

Oleh

Jamius Bin Stepanus

NRP. 02211550012006

Tanggal Ujian : 16 Juli 2018

Periode Wisuda : September 2018

Disetujui oleh :

1. Prof. Dr. Ir. Sugeng Winardi, M.Eng.
NIP. 195209161980031002

(Pembimbing 1)



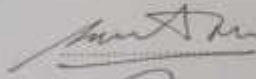
2. Dr. Siti Machmudah, ST., M.Eng.
NIP. 197305121999032001

(Pembimbing 2)



3. Dr. Tantular Nurtono, ST., M.Eng.
NIP. 197205201997021001

(Penguji 1)



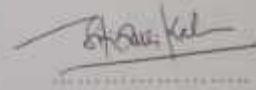
4. Dr. Ir. Sumarno, M.Eng.
NIP. 196406081991021001

(Penguji 2)



5. Siti Zullaikah, ST., MT., PhD.
NIP. 197807162008122002

(Penguji 3)



Dekan Fakultas Teknologi Industri
Institut Teknologi Sepuluh Nopember

Dr. Bambang Lelono Widjiantoro, ST., MT.
NIP. 196905071995121001

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kehadiran Tuhan Yesus *Kristus*, yang telah melimpahkan berkat dan anugrah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan tesis ini dengan judul “ **Biodiesel dari Lipid yang Diekstrak pada Mikroalga Basah Menggunakan Metode Ekstraksi Dimetil Eter** ”.

Tesis ini merupakan salah satu prasyarat meraih gelar master di Departemen Teknik Kimia FTI-ITS. Limpahan rasa hormat dan bakti serta doa, penulis persembahkan kepada kedua orang tua tercinta, Ayahanda Stepanus Liliwana dan Ibunda Hana Mathius yang telah mengasuh dan membimbing penulis dengan doa dan kasih sayang yang tulus, senantiasa mengiringi perjalanan dalam menuntut ilmu. Untuk saudara-saudaraku Korina Stepanus, Patrisius Stepanus dan Rigina Stepanus yang telah memberikan dukungan dan senantiasa memotivasi penulis dalam menyelesaikan tesis ini, semoga sukacita dan damai sejahtera Allah selalu menyertai mereka selamanya.

Selama penyusunan tesis ini, penulis juga banyak mendapat bimbingan, dorongan dan bantuan dari berbagai pihak yang telah membantu, baik secara materi maupun secara non materi. Dengan demikian, penulis ingin mengucapkan terima kasih yang tak terhingga serta penghargaan yang setinggi-tingginya kepada semua pihak yang telah membantu penulis secara langsung maupun tidak langsung kepada yang terhormat:

- Bapak Dr. Tantular Nurtono, ST., M.Eng selaku Ketua Program Studi Pascasarjana Teknik Kimia FTI-ITS.
- Bapak Prof. Dr. Ir. Sugeng Winardi, M. Eng selaku dosen Pembimbing dan Kepala Laboratorium Mekanika Fluida dan Pencampuran, Departemen Teknik Kimia FTI-ITS, atas bimbingan, saran dan motivasi yang diberikan.
- Ibu Dr. Siti machmudah, ST. M. Eng selaku dosen Pembimbing, atas bimbingan, saran dan motivasi yang diberikan.

- Bapak Dr. Tantular Nurtono, ST., M.Eng, Bapak Dr. Ir. Sumarno, M.Eng dan Ibu Siti Zullaikah, ST., MT., PhD selaku dosen Penguji, atas saran dan masukan yang diberikan.
- Bang Farid selaku laboran di Laboratorium Mekanika Fluida dan Pencampuran yang banyak membantu dalam melakukan eksperimen.
- Seluruh dosen di Departemen Teknik Kimia ITS, atas semua ilmu serta bimbingan selama penulis menempuh pendidikan.
- Seluruh civitas akademika Departemen Teknik Kimia FTI-ITS yang telah memberikan dukungan moril kepada penulis.
- Serta semua pihak lainnya yang tidak bisa disebutkan penulis satu persatu yang telah membantu dalam penyusunan tesis.

Penulis sadar bahwa masih banyak kekurangan dalam penyusunan tesis ini, maka penulis mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun dalam penulisan artikel selanjutnya. Akhirnya penulis berharap semoga isi tesis ini dapat memberikan manfaat dalam pengembangan wawasan bidang ilmu sains.

Surabaya, 17 Juli 2018

Penulis

BIODIESEL DARI LIPID YANG DIEKSTRAK PADA MIKROALGA BASAH MENGGUNAKAN METODE EKSTRAKSI DIMETIL ETER

Nama : Jamius Bin Stepanus
NRP : 02211550012006
Pembimbing : Prof. Dr. Ir. Sugeng Winardi, M.Eng
Ko-Pembimbing : Dr. Siti Machmudah, ST., M.Eng

ABSTRAK

Mikroalga berpotensi sebagai *raw material* untuk memproduksi *biofuel* (biodiesel, bioetanol dan biogas) karena mengandung kadar lipid yang tinggi yaitu sekitar 4-77 %. Lipid dapat dikonversi menjadi biodiesel melalui reaksi esterifikasi dan transesterifikasi. Penelitian ini dilakukan untuk mempelajari penggunaan dimetil eter (DME) sebagai pelarut untuk mengekstrak lipid dari tiga spesies mikroalga: *Nannochloropsis oculata*, *Nitzschia* sp. dan *Chaetoceros calcitrans*, dimana mikroalga dalam kondisi basah tanpa *pretreatment* seperti proses *drying* dan *cell disruption*. Hasil ekstraksi metode DME kemudian dibandingkan dengan metode ekstraksi Sokletasi dan Bligh Dyer. Komponen-komponen lipid yaitu asam lemak bebas (*free fatty acid*, FFA), monogliserida (*monoacylglycerol*, MAG), digliserida (*diacylglycerol*, DAG) dan trigliserida (*triacylglycerol*, TAG) ditentukan melalui analisa kromatografi gas- *flame ionization detector* (GC-FID). Lipid dari mikroalga dikonversi menjadi biodiesel menggunakan metode metanol superkritis non-katalik pada suhu 290°C selama 2 jam. Kandungan lipid dari metode ekstraksi DME (akumulasi 5 kali ekstraksi pada suhu 40°C dengan jumlah DME sebanyak 100g) untuk *N.oculata*, *Nitzschia* sp. dan *C. calcitrans* adalah 70.03%, 73.3% dan 60.92% masing-masing.

Biodiesel yang disintesis mengandung asam miristat (C14:0), asam palmitat (C16:0) dan asam palmitoleat (C16:1).

Kata kunci : Lipid, *Nannochloropsis oculata*, *Nitzschia* sp., *Chaetoceros calcitrans*, Dimetil eter, Biodiesel

BIODIESEL FROM LIPID EXTRACTED VIA WET MICROALGAE USING DIMETHYL ETHER EXTRACTION METHOD

Name : Jamius Bin Stepanus
NRP : 02211550012006
Advisor : Prof. Dr. Ir. Sugeng Winardi, M.Eng
Co- Advisor : Dr. Siti Machmudah, ST., M.Eng

ABSTRACT

Microalgae have potential as raw materials for biofuel production (biodiesel, bioethanol and *biogaseous*) because contain high lipid content about 4-77 %. Lipid can be convert to biodiesel via esterification and transesterification reaction. This study performed to investigate the usage of dimethyl ether (DME) as solvent to extract lipid from three species microalgae: *Nannochloropsis oculata*, *Nitzschia* sp. and *Chaetoceros calcitrans*, at wet condition without pretreatment such as drying and cell disruption process. DME extraction results then compare with Soxhlet and Bligh Dyer extraction method. Free fatty acid (FFA), monoacylglycerol (MAG), diacylglycerol (DAG) and triacylglycerol (TAG) as lipid components were determined by gas chromatography-flame ionization detector (GC-FID) analysis. Lipid from microalgae converted to biodiesel using non catalytic supercritical methanol method at temperature 290°C for 2 hours. Lipid content from DME extraction method (accumulation for 5 times extraction at temperature 40 °C for 100g of DME amount) for *N.oculata*, *Nitzschia* sp. and *C. calcitrans* were 70.03%, 73.3% and 60.92% respectively. Biodiesel that has been synthesized contain myristic acid (C14:0), palmitic acid (C16:0) and palmitoleic acid (C16:1).

Keywords : Lipid, *Nannochloropsis oculata*., *Nitzschia* sp., *Chaetoceros calcitrans*, Dimethyl ether, Biodiesel

(Halaman ini sengaja dikosongkan)

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	
LEMBAR PENGESAHAN	
KATA PENGANTAR	i
ABSTRAK	iii
ABSTRACT.....	v
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR TABEL.....	xiii
BAB 1 PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Perumusan Masalah	3
1.3 Tujuan dan Manfaat Penelitian	
1.3.1 Tujuan Penelitian.....	3
1.3.2 Manfaat Penelitian.....	4
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Mikroalga.....	5
2.2 <i>Nannochloropsis oculata</i>	6
2.3 <i>Nitzschia</i> sp.	7
2.4 <i>Chaetoceros calcitrans</i>	9
2.5 Dimetil Eter (DME)	10
2.6 Ekstraksi	12
2.7 Ekstraksi dengan DME	13
BAB 3 METODE PENELITIAN	
3.1 Bahan Penelitian	17
3.2 Alat Penelitian.....	17
3.3 Prosedur Penelitian	
3.3.1 Tahap Penentuan Kandungan Air (<i>Moisture Content</i>) dalam Sampel Mikroalga Basah.....	17
3.3.2 Tahap Ekstraksi	

A. Metode Ekstraksi Sokletasi	18
B. Metode Ekstraksi Bligh Dyer	19
C. Metode Ekstraksi DME	
C.1 Penentuan Pengaruh Jumlah DME Terhadap <i>Yield</i> Ekstrak.....	20
C.3 Penentuan Pengaruh Suhu Terhadap <i>Yield</i> Ekstrak.....	21
3.3.3 Tahap Analisa	
A. Analisa GC untuk Lipid dari Ekstrak	21
B. Analisa GCMS untuk Ekstrak.....	22
C. Analisa GC untuk Biodiesel	22
3.3.4 Tahap Sintesis Biodiesel (FAME, <i>Fatty Acid Methyl Ester</i>)	22
BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Tahap Penentuan Kandungan Air (<i>Moisture Content</i>) dalam Sampel	
Mikroalga Basah	25
4.2 Tahap Ekstraksi	
4.2.1 Metode Ekstraksi Sokletasi.....	26
4.2.2 Metode Ekstraksi Bligh Dyer.....	27
4.2.3 Metode Ekstraksi DME.....	28
4.3 Tahap Analisa	
4.3.1 Analisa GC untuk Lipid dari Ekstrak.....	35
4.3.2 Analisa GCMS untuk Ekstrak.....	44
4.4 Tahap Sintesis Biodiesel (FAME)	48
BAB 5 KESIMPULAN DAN SARAN	
5.1 Kesimpulan	57
5.2 Saran	58
DAFTAR PUSTAKA	59
LAMPIRAN	

DAFTAR GAMBAR

GAMBAR 2.1	<i>Nannochloropsis oculata</i>	6
GAMBAR 2.2	<i>Nitzschia</i> sp.....	8
GAMBAR 2.3	<i>Chaetoceros calcitrans</i>	10
GAMBAR 2.4	Geometri Molekul Dimetil Eter	11
GAMBAR 2.5	Rangkaian Alat Metode Ekstraksi DME	14
GAMBAR 2.6	Perbandingan Tahapan Metode Ekstraksi Dimetil Eter dengan Metode Ekstraksi Konvensional	15
GAMBAR 3.1	Rangkaian Alat Sokhlet.....	19
GAMBAR 3.2	Rangkaian Alat Metode Ekstraksi DME	21
GAMBAR 4.1	Grafik <i>Yield</i> Ekstrak (Berat Basah Ekstrak Per Berat Basah Mikroalga) Terhadap Jumlah DME (g) untuk Spesies Mikroalga <i>N. oculata</i> , <i>Nitzschia</i> sp. dan <i>C. calcitrans</i>	29
GAMBAR 4.2	Grafik <i>Yield</i> Ekstrak (Berat Kering Ekstrak Per Berat Basah Mikroalga) Terhadap Jumlah DME (g) untuk Spesies Mikroalga <i>N. oculata</i> , <i>Nitzschia</i> sp. dan <i>C. calcitrans</i>	31
GAMBAR 4.3	Grafik <i>Yield</i> Ekstrak (Berat Kering Ekstrak Per Berat Kering Mikroalga) Terhadap Jumlah DME (g) untuk Spesies Mikroalga <i>N. oculata</i> , <i>Nitzschia</i> sp. dan <i>C. calcitrans</i>	31
GAMBAR 4.4	Grafik <i>Yield</i> Ekstrak (Berat Basah Ekstrak Per Berat Basah Mikroalga) Terhadap Suhu (°C) untuk Spesies Mikroalga <i>N. oculata</i> , <i>Nitzschia</i> sp. dan <i>C. calcitrans</i>	32
GAMBAR 4.5	Grafik <i>Yield</i> Ekstrak (Berat Kering Ekstrak Per Berat Basah Mikroalga) Terhadap Suhu (°C) untuk Spesies Mikroalga <i>N. oculata</i> , <i>Nitzschia</i> sp. dan <i>C. calcitrans</i>	33
GAMBAR 4.6	Grafik <i>Yield</i> Ekstrak (Berat Kering Ekstrak Per Berat Kering Mikroalga) Terhadap Suhu (°C) untuk Spesies Mikroalga <i>N. oculata</i> , <i>Nitzschia</i> sp. dan <i>C. calcitrans</i>	34
GAMBAR 4.7	Kromatogram GC untuk Ekstrak <i>N. oculata</i> dengan Metode	

	Ekstraksi (a) Sokletasi, (b) Bligh Dyer dan (c) DME (5x Ekstraksi, DME=100g, suhu 40°C).....	37
GAMBAR 4.8	Grafik Perbandingan <i>Yield</i> (%) FFA, MAG, DAG dan TAG pada Ekstrak <i>N. oculata</i> dari Metode Ekstraksi Sokletasi, Bligh Dyer dan DME	38
GAMBAR 4.9	Kromatogram GC untuk Ekstrak <i>Nitzschia</i> sp. dengan Metode Ekstraksi (a) Sokletasi, (b) Bligh Dyer dan (c) DME (5x Ekstraksi, DME=100g, suhu 40°C)	40
GAMBAR 4.10	Grafik Perbandingan <i>Yield</i> (%) FFA, MAG, DAG dan TAG pada Ekstrak <i>Nitzschia</i> sp. dari metode Ekstraksi Sokletasi, Bligh Dyer dan DME.	41
GAMBAR 4.11	Kromatogram GC untuk Ekstrak <i>C. calcitrans</i> dengan Metode Ekstraksi (a) Sokletasi, (b) Bligh Dyer dan (c) DME (5x Ekstraksi, DME=100g, suhu 40°C).....	43
GAMBAR 4.12	Grafik Perbandingan <i>Yield</i> (%) FFA, MAG, DAG dan TAG pada Ekstrak <i>N. oculata</i> dari Metode Ekstraksi Sokletasi, Bligh Dyer dan DME	44
GAMBAR 4.13	Kromatogram GCMS untuk Ekstrak <i>C. calcitrans</i> dengan Metode Ekstraksi Sokletasi	45
GAMBAR 4.14	Kromatogram GCMS untuk Ekstrak <i>C. calcitrans</i> dengan Metode Ekstraksi Bligh Dyer	46
GAMBAR 4.15	Kromatogram GCMS untuk Ekstrak <i>C. calcitrans</i> dengan Metode Ekstraksi DME (DME=100g, suhu 40°C)	47
GAMBAR 4.16	Reaksi Sintesis Biodiesel	50
GAMBAR 4.17	Biodiesel dari (a) <i>N. oculata</i> , (b) <i>Nitzschia</i> sp. dan (c) <i>C. calcitrans</i>	51
GAMBAR 4.18	Kromatogram GC - Biodiesel dari Ekstrak <i>N. oculata</i> (5x Ekstraksi, DME=100g, Suhu 40°C)	51
GAMBAR 4.19	Kromatogram GC - Biodiesel dari Ekstrak <i>Nitzschia</i> sp. (5x Ekstraksi, DME=100g, Suhu 40°C)	52
GAMBAR 4.20	Kromatogram GC - Biodiesel dari Ekstrak <i>C. calcitrans</i> (5x Ekstraksi, DME=100g, Suhu 40°C)	52

GAMBAR 4.21	Kromatogram GC - Biodiesel dari Ekstrak <i>C. calcitrans</i> (1x Ekstraksi, DME=100g, Suhu 40°C).....	53
GAMBAR 4.22	Kromatogram GCMS - Ekstrak Sokletasi dari <i>Nitzschia</i> sp. (Analisa di Jepang)	54
GAMBAR 4.23	Kromatogram GCMS - Ekstrak Bligh Dyer dari <i>Nitzschia</i> sp. (Analisa di Jepang)	54

(Halaman ini sengaja dikosong)

DAFTAR TABEL

TABEL 2.1	Profil Asam Lemak <i>N. oculata</i>	7
TABEL 2.2	Profil Asam Lemak <i>Nitzschia</i> sp.	8
TABEL 2.3	Profil Asam Lemak <i>C. calcitrans</i>	10
TABEL 4.1	Kandungan Air (<i>Moisture Content</i>)	25
TABEL 4.2	Hasil Ekstraksi Sokletasi	26
TABEL 4.3	Hasil Ekstraksi Bligh Dyer.....	27
TABEL 4.4	Hasil GCMS – Ekstrak <i>C. calcitrans</i> (Sokletasi).....	45
TABEL 4.5	Hasil GCMS – Ekstrak <i>C. calcitrans</i> (Bligh Dyer)	46
TABEL 4.6	Hasil GCMS – Ekstrak <i>C. calcitrans</i> (DME=100g, Suhu 40°C)	47
TABEL 4.7	Hasil GC – Biodiesel dari Ekstrak <i>C. calcitrans</i> (DME=100g, Suhu 40°C).....	53

(Halaman ini sengaja dikosongkan)

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia memiliki beberapa potensi sumber daya energi fosil diantaranya batubara, minyak bumi dan gas alam. Pada tahun 2014, cadangan terbukti batubara sebesar 32,27 miliar ton, minyak bumi sebesar 3,6 miliar barel, dan cadangan gas alam sebesar 100,3 TCF (*Trillion Cubic feet*). Bila diasumsikan tidak ada penemuan cadangan baru, berdasarkan rasio R/P (*Reserve/Production*) tahun 2014, maka batubara akan habis dalam 70 tahun, minyak bumi 12 tahun dan gas alam 37 tahun. Cadangan ini bahkan akan lebih cepat habis dari tahun yang disebut diatas karena kecenderungan produksi energi fosil yang terus meningkat (BPPT, 2016) (BPPT, Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi). Hal ini sudah tentunya akan menimbulkan krisis energi berhubung energi fosil merupakan energi yang tidak dapat diperbaharui (*unrenewable energy*) (Gadonneix *et al.*, 2013).

Energi Baru dan Terbarukan (EBT) atau *Renewable Energy* adalah jawaban yang tepat untuk pemecahan masalah ini. Namun, potensi EBT di Indonesia saat ini belum dimanfaatkan secara maksimal, data dari BPPT (2015) menyebut bahwa rasio kontribusi EBT terhadap total penyediaan energi nasional masih cukup rendah, yaitu sebesar 7,27 % di tahun 2016. Hal ini menjadi tantangan dan sekaligus kesempatan bagi para peneliti energi di Indonesia.

Salah satu sumber EBT yang berupa biomassa adalah mikroalga (Tumuluru *et al.*, 2011). Mikroalga adalah mikroorganisme uniselular atau multiselular sederhana yang mampu mengikat CO₂ dan menyerap energi matahari dengan sangat efisien untuk menghasilkan energi melalui proses fotosintesa (Chisti, 2007). Mikroalga berpotensi sebagai bahan *biofuel* (biodiesel, bioetanol dan biogas) kerana mengandung kadar lipid yang tinggi yaitu sekitar 4-77 % (Chisti, 2007; Gouveia dan Olivea, 2009) Lipid dapat dikonversi menjadi biodiesel melalui reaksi transesterifikasi berkataliskan asam atau basa (Meher *et al.*, 2006) dan enzim lipase (Sharma *et al.*, 2001). Umdu *et al.* (2009) juga

melaporkan bahwa mikroalga mengandung lipid yang cocok untuk biodiesel yang diperoleh dari proses transesterifikasi berkataliskan CaO dan MgO.

Biodiesel dari mikroalga bersifat non toksik, kandungan sulfur yang rendah dan dapat diuraikan secara alami (*Biodegradable*) (Wagner, 2010). Mikroalga telah dicanangkan sebagai kandidat produksi *biofuel* yang baik karena kelebihanannya yaitu memiliki efisiensi fotosintesis yang lebih tinggi, produksi biomassa yang lebih tinggi bahkan laju pertumbuhan yang lebih cepat dibandingkan energi yang diperoleh dari tanaman (Miao dan Wu, 2006).

Kandungan lipid pada mikroalga bervariasi tergantung pada kondisi lingkungan, termasuk pH, suhu, cahaya dan ketersediaan zat nutrisi (Behrens dan Kyle, 1996). Atas faktor ini, terdapat sejumlah studi dan penelitian yang telah dilakukan untuk meningkatkan produktifitas dan komposisi lipid dalam mikroalga melalui jalur biosintesisnya. Antara lain tentang pengaruh makronutrien nitrogen dan fosfor pada *Nannochloropsis* sp. (Astuti dan Sriwuryandari, 2010), pengaruh mikronutrien Mg^{2+} pada *Scenedemus* sp. (Astuti *et al.*, 2011), pengaruh salinitas, pH, dan intensitas cahaya pada *Chlorella* sp. (Rai *et al.*, 2015), pengaruh waktu kultivasi pada *Botryococcus braunii* (Ruangsomboon, 2012) dan pengaruh CO_2 (Darzins *et al.*, 2010).

Namun sejauh ini, teknologi pemisahan yang diterapkan dalam mengekstrak kandungan lipid serta senyawa fitokimia dari mikroalga untuk memperoleh hasil yang optimal masih belum berkembang. Terdapat beberapa metode konvensional yang digunakan untuk mengekstraksi lipid baik dari hewan maupun tumbuhan termasuk mikroalga. Namun, metode-metode tersebut melibatkan beberapa tahapan awal (*pretreatment*) seperti pengeringan (*drying*) dan penghalusan (*cell disruption*), bahkan melibatkan pemanasan (*heating*) untuk menghilangkan pelarut organik dari ekstrak melalui proses evaporasi.

Belakangan ini telah dikembangkan suatu metode ekstraksi sederhana yang efisien untuk mengekstrak lipid tanpa melalui proses pengeringan (*drying*) dan penghalusan (*cell disruption*), dengan sampelnya masih dalam keadaan basah. Adapun, metode ini menggunakan cairan dimetil eter (DME) sebagai pelarut. Metode ekstraksi DME lebih unggul berbanding metode ekstraksi konvensional. Hal ini telah dibuktikan dalam beberapa penelitian terdahulu yang menunjukkan

perbedaan hasil ekstrak yang cukup signifikan (Kanda dan Li, 2011; Boonnoun *et al.*, 2014; Kanda *et al.*, 2014; Kanda *et al.*, 2015).

Terdapat beberapa spesies mikroalga yang diduga memiliki kandungan lipid yang cukup tinggi yaitu antara lain *Nannochloropsis oculata* 31-68%, *Nitzschia* sp. 45-47 % (Chisti, 2007) dan *Chaetoceros calcitrans* 11-26% (Banerjee *et al.*, 2011). Spesies-spesies mikroalga ini berpotensi digunakan sebagai *raw material* untuk memproduksi *biofuel*. Namun sejauh ini, belum ada penelitian yang dilakukan untuk mengekstrak lipid dari ketiga spesies tersebut menggunakan DME sebagai pelarut. Dengan demikian, berdasarkan uraian-uraian yang telah dijelaskan diatas, maka perlulah dilakukan ekstraksi lipid terhadap spesies mikroalga *N. oculata*, *Nitzschia* sp. dan *C. calcitrans* menggunakan metode ekstraksi DME dan mengkonversikannya menjadi biodiesel.

1.2 Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan di atas, maka masalah yang dapat dirumuskan adalah :

1. Bagaimana jumlah DME mempengaruhi *yield* ekstrak pada metode ekstraksi DME ?
2. Bagaimana suhu mempengaruhi *yield* ekstrak pada metode ekstraksi DME ?
3. Bagaimana perbandingan *yield* ekstrak dari metode ekstraksi DME dengan metode ekstraksi Sokletasi dan Bligh Dyer ?
4. Bagaimana potensi biodiesel dari *N. oculata*, *Nitzschia* sp. dan *C. calcitrans* menggunakan metode ekstraksi DME ?

1.3 Tujuan dan Manfaat Penelitian

1.3.1 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah :

1. Menentukan pengaruh jumlah DME terhadap *yield* ekstrak pada metode ekstraksi DME ?
2. Menentukan pengaruh suhu terhadap *yield* ekstrak pada metode ekstraksi DME ?
3. Membandingkan *yield* ekstrak dari metode ekstraksi DME dengan metode

4. ekstraksi Sokhletasi dan Bligh Dyer.
5. Mensintesis biodiesel dari *N. oculata*, *Nitzschia* sp. dan *C. calcitrans* menggunakan metode ekstraksi DME ?

1.3.2 Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian yang diharapkan adalah :

1. Menambah informasi ilmiah dari segi kandungan lipid dalam spesies *N. oculata*, *Nitzschia* sp. dan *C. calcitrans*.
2. Memberikan kontribusi bagi ilmu pengetahuan dan menjadi referensi bagi peneliti yang berminat dalam bidang EBT khususnya terkait *biofuel* dari mikroalga.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Mikroalga

Mikroalga telah lama dikenal karena memiliki aktivitas biologikal seperti pigmen, lemak dan protein. Mikroalga merupakan jasad renik dengan tingkat organisasi sel termasuk dalam tumbuhan tingkat rendah. Mikroalga tergolong sebagai tumbuhan air yang berukuran mikroskopik, memiliki berbagai potensi yang dapat dikembangkan sebagai sumber pakan, pangan dan bahan kimia lainnya.

Budidaya mikroalga sangat menarik karena tingkat pertumbuhannya yang tinggi dan mampu beradaptasi pada kondisi lingkungan yang bervariasi (Brown dan Wynne, 1997). Mikroalga diklasifikasikan sebagai tumbuhan karena memiliki klorofil dan mempunyai suatu jaringan sel menyerupai tumbuhan tingkat tinggi. Melalui pendekatan suatu skema klasifikasi, spesies mikroalga dikarakterisasi berdasarkan kesamaan morfologi dan biokimia.

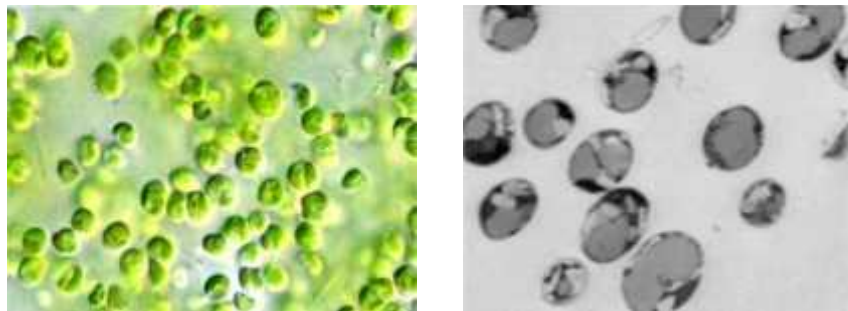
Tingginya potensi *biofuel* dari mikroalga telah dikemukakan oleh Umdu *et al.* (2009) yang menyatakan bahwa mikroalga mengandung lipid yang cocok untuk biodiesel melalui reaksi transesterifikasi. Mikroalga dapat dijadikan alternatif pengembangan energi dan sangat potensial untuk dijadikan bahan baku biodiesel karena (Panggabean dkk., 2010; Darzins *et al.*, 2010) :

1. Mengandung minyak/lipid hingga 70 %.
2. Bila dibandingkan dengan tanaman dan material berkayu lainnya, mikroalga mempunyai kelebihan yaitu :
 - Efisiensi fotosintesis yang tinggi
 - Menghasilkan biomassa yang lebih banyak
 - Pertumbuhan lebih cepat
 - Tidak berkompetisi dengan produksi pangan
 - Dapat menggunakan air hasil daur ulang sehingga menghemat sumber daya air (*water recycling*)
 - Mengurangi emisi gas rumah kaca (*CO₂ recycling*)

- Dapat menggunakan limbah tertentu sebagai sumber nutrisi (N, P dan Si)
 - Mempunyai komponen sampingan lain selain lipid (misalnya protein dan pigmen yang mempunyai nilai ekonomi yang tinggi)
3. Dapat mengubah CO₂ menjadi biomassa melalui proses fotosintesis.
 4. Dapat bertahan didalam salinitas tinggi.
 5. Sesuai dengan iklim di Indonesia.

2.2 *Nannochloropsis oculata*

N. oculata merupakan mikroalga yang termasuk dalam kelas Eustigmatophyceae dengan ukuran 2–5 mikron, memiliki 2 flagella dimana salah satu flagella berambut tipis serta memiliki dinding sel yang tersusun dari selulosa (Hoek *et al.*, 1995). **Gambar 2.1** menampilkan bentuk dari *N. oculata* (ThalgaLaBeauteMarine, 2018; Ma *et al.*, 2016).



Gambar 2.1 *Nannochloropsis oculata*

Taksonomi dari *N. oculata* adalah seperti berikut (AlgaeBase, 2017a) :

<i>Empire</i>	: Eukaryota
<i>Kingdom</i>	: Chromista
<i>Phylum</i>	: Ochrophyta
<i>Class</i>	: Eustigmatophyceae
<i>Order</i>	: Eustigmatales
<i>Family</i>	: Monodopsidaceae
<i>Genus</i>	: <i>Nannochloropsis</i>
<i>Species</i>	: <i>Nannochloropsis oculata</i>

Mikroalga dari genus *Nannochloropsis* memiliki total kandungan lipid yang cukup tinggi yaitu berkisar antara 31-68 % (Chisti, 2007). Ma *et al.* (2014) melaporkan bahwa kandungan trigliserida (salah satu komponen lipid) pada *N. oculata* lebih tinggi berbanding pada genus *Nannochloropsis* yang lain yaitu *N. gaditana*, *N. granulate*, *N. limetica* dan *N. oceanica*. **Tabel 2.1** memperlihatkan profil asam lemak pada *N. oculata* dari beberapa penelitian, dimana asam lemak tertinggi yang terkandung pada spesies tersebut adalah C16:0, C16:1 dan C18:1 (Millán-oropeza dan Fernández-linares, 2016; Suh *et al.*, 2015; Ma *et al.*, 2014).

Tabel 2.1 Profil Asam Lemak *N. oculata*.

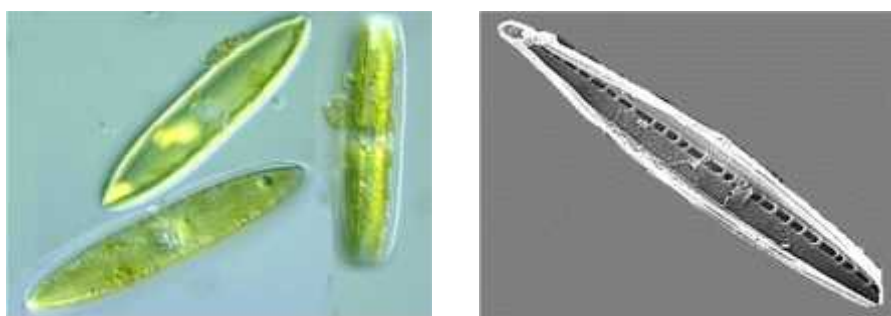
Asam lemak	Rumus
Asam miristat	C14:0
Asam 9-tetradekanoat	C14:1
Asam palmitat	C16:0
Asam palmitoleat	C16:1
Asam stearat	C18:0
Asam oleat	C18:1
Asam -linoleat	C18:3
Asam arakidat	C20:0
Asam arakidonat	C20:4
Asam eikosapentaenoat	C20:5

2.3 *Nitzschia* sp.

Nitzschia sp. merupakan mikroalga yang termasuk dalam kelas Bacillariophyceae. Bentuk dari *Nitzschia* sp. dapat diperhatikan di **Gambar 2.2** (BGSU, 2018; ProtistImages, 2018). Berikut adalah taksonomi dari *Nitzschia* sp. (AlgaeBase, 2017b) :

Empire : Eukaryota
Kingdom : Chromista

Phylum : Bacillariophyta
Class : Bacillariophyceae
Order : Bacillariales
Family : Bacillariaceae
Genus : *Nitzschia*
Species : *Nitzschia* sp.



Gambar 2.2 *Nitzschia* sp.

Total kandungan lipid yang terdapat pada *Nitzschia* sp. adalah sebesar 45-47 % (Chisti, 2007). Prartono *et al.* (2010) melaporkan bahwa *Nitzschia* sp. berpotensi digunakan sebagai *raw material* untuk memproduksi *biofuel* dimana asam lemak yang ditemukan di *Nitzschia* sp. adalah asam laurat, asam miristat, asam stearat, asam palmitat, asam palmitoleat, asam palmitolenat, asam oleat, asam linoleat, vinil laurat dan gliserol trilaurat. Sementara profil asam lemak yang diperoleh dari studi oleh Pratoomyot *et al.* (2005) tercantum pada **Tabel 2.2** Dari kedua studi tersebut, diketahui bahwa kandungan asam lemak terbanyak pada *Nitzschia* sp. adalah asam palmitat, palmitoleat, oleat dan eikosapentaenoat.

Tabel 2.2 Profil Asam Lemak *Nitzschia* sp.

Asam lemak	Rumus
Asam miristat	C14:0
Asam palmitat	C16:0
Asam palmitoleat	C16:1
Asam hexadekadienoat	C16:2

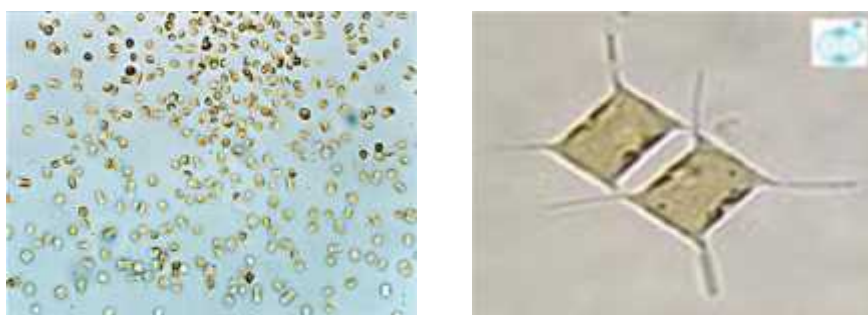
Asam stearat	C18:0
Asam oleat	C18:1
Asam linoleat	C18:2
Asam γ -linoleat	C18:3
Asam arakidat	C20:0
Asam arakidonat	C20:4
Asam eikosapentaenoat	C20:5

2.4 *Chaetoceros calcitrans*

C. calcitrans merupakan alga jenis diatom (*Bacillariophyceae*), yang berwarna coklat keemasan. Diatom memiliki beberapa pigmen warna yakni klorofil a, klorofil c, karoten, diatomin dan fukosantin. Pigmen klorofil memiliki peran sebagai katalisator dalam proses fotosintesis sedangkan adanya pigmen karoten dan diatomin menyebabkan dinding sel dari *C. calcitrans* berwarna coklat keemasan. Kandungan lipid pada *C. calcitrans* adalah sekitar 11-26%.

C. calcitrans memiliki taksonomi seperti dibawah (AlgaeBase, 2017c) dan bentuknya ditunjukkan pada **Gambar 2.3** (GenePoolConservation, 2018; PlanktonNet, 2018).

<i>Empire</i>	: Eukaryota
<i>Kingdom</i>	: Chromista
<i>Phylum</i>	: Bacillariophyta
<i>Class</i>	: Mediophyceae
<i>Order</i>	: Chaetocerotales
<i>Family</i>	: Chaetocerotaceae
<i>Genus</i>	: <i>Chaetoceros</i>
<i>Species</i>	: <i>Chaetoceros calcitrans</i>



Gambar 2.3 *Chaetoceros calcitrans*

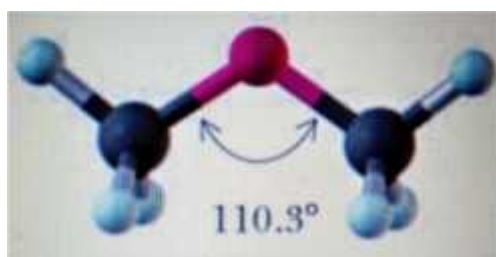
Profil asam lemak yang terkandung pada *C. calcitrans* diperlihatkan pada **Tabel 2.3**. Asam miristat, palmitat, palmitoleat dan eikosapentaenoat merupakan asam lemak terbanyak yang ditemukan pada *C. calcitrans* (Miller *et al.*, 2012; Napolitano, 1990).

Tabel 2.3. Profil Asam Lemak *C. calcitrans*.

Asam lemak	Rumus
Asam miristat	C14:0
Asam palmitat	C16:0
Asam palmitoleat	C16:1
Asam hexadekadienoat	C16:2
Asam hexadekatrienoat	C16:3
Asam stearat	C18:0
Asam eikosapentaenoat	C20:5
Asam dokoheksaenoat	C22:2

2.5 Dimetil Eter (DME)

Dimetil eter dengan nama IUPAC (*International Union of Pure and Applied Chemistry*), metoksi metana, merupakan eter paling sederhana. DME memiliki rumus molekul CH_3OCH_3 , dengan 2 gugus metil (CH_3) yang terikat pada 1 atom oksigen (Bettelheim *et al.*, 2010). **Gambar 2.4** memperlihatkan geometri molekul DME yang mirip dengan air (Mcmurry, 2008) yaitu berupa tetrahedral, dimana sudut antar ikatan C-O-C sebesar $110,3^\circ$ (Brown *et al.*, 2009).



Gambar 2.4 Geometri Molekul Dimetil Eter.

DME berwujud gas yang tidak berwarna pada kondisi atmosfer normal. Properti fisik dari DME adalah seperti berikut, massa molar ; $46,0684 \text{ gmol}^{-1}$, titik didih normal (pada 1 atm) ; 248.368 K ($-24.782 \text{ }^{\circ}\text{C}$), temperatur kritis ; $400,378 \text{ K}$ ($127,228 \text{ }^{\circ}\text{C}$) dan tekanan kritis ; 5336.8 kPa (Wu *et al.*, 2011). Walaupun berat molekul DME lebih besar dari air (massa molar air ; $18,0152 \text{ gmol}^{-1}$), namun titik didih DME jauh lebih rendah berbanding titik didih air ($100 \text{ }^{\circ}\text{C}$ pada 1 atm). Begitu pula dengan isomer dari DME yaitu etanol ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$) dengan titik didih yang juga lebih tinggi, 78°C . Hal ini berkaitan dengan interaksi antar molekul-molekul DME yang tidak dapat membentuk ikatan hidrogen. Sebaliknya, antar molekul DME dan molekul air dapat berikatan hydrogen (Cheremisinoff, 2003), dengan demikian DME larut secara parsial dalam air (Holldorff dan Knapp, 1988).

DME memiliki afinitas yang tinggi terhadap senyawa-senyawa berminyak (Eltringham dan Catchpole, 2007). Pada dasarnya, DME bersifat inert, yang mana hanya bereaksi atau terdekomposisi pada kondisi yang tidak lazim. Alasan ini mengapa DME dapat digunakan sebagai pelarut. Bahkan *European Food Safety Authority (EFSA)* (EFSA, 2015), *Food Standards Australia, New Zealand* dan *Unites States* telah menetapkan DME sebagai pelarut ekstraksi yang aman untuk produksi bahan makanan dan pangan (Varlet *et al.*, 2014). Sebagai pelarut, DME juga memiliki kelarutan yang tinggi baik pada senyawa polar maupun terhadap senyawa non polar.

2.6 Ekstraksi

Ekstraksi adalah jenis pemisahan satu atau beberapa bahan dari suatu padatan atau cairan. Proses ekstraksi bermula dari penggumpalan ekstrak dengan pelarut kemudian terjadi kontak antara bahan dan pelarut sehingga pada bidang datar antarmuka bahan ekstraksi dan pelarut terjadi pengendapan massa dengan cara difusi. Bahan ekstraksi yang telah tercampur dengan pelarut yang telah menembus kapiler-kapiler dalam suatu bahan padat dan melarutkan ekstrak larutan dengan konsentrasi lebih tinggi dibagian dalam bahan ekstraksi dan terjadi difusi yang memacu keseimbangan konsentrasi larutan dengan larutan diluar bahan.

Ekstraksi lipid dari mikroalga dilakukan menggunakan pelarut heksan dengan dasar pertimbangan pelarut tersebut bersifat non polar yang dapat mengikat minyak atau lemak (trigliserida) yang bersifat non-polar, mudah dipisahkan dari campurannya dengan zat terlarut, kekentalan relatif rendah dan murah biayanya.

Ekstraksi dengan pelarut dapat dilakukan dengan cara dingin dan cara panas. Jenis-jenis ekstraksi tersebut sebagai berikut:

1. Cara Dingin

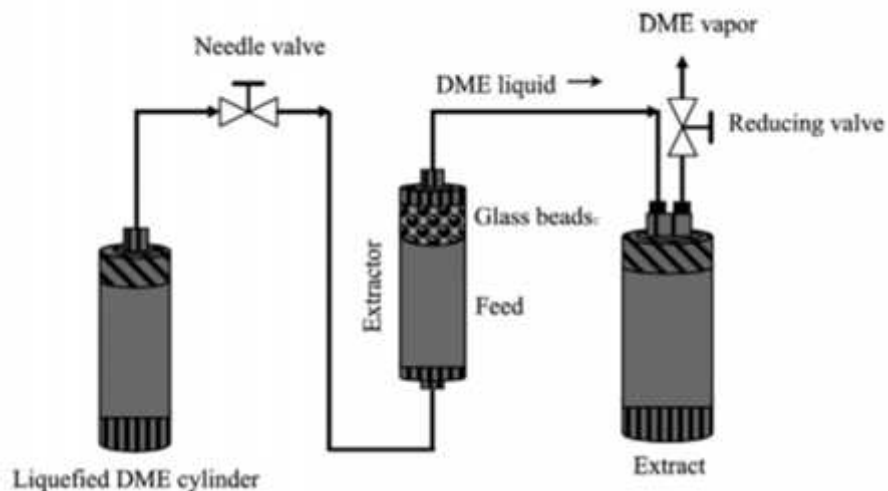
- a. Maserasi, adalah ekstraksi menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengadukan pada suhu kamar. Secara teknologi termasuk ekstraksi dengan prinsip metoda pencapaian konsentrasi pada keseimbangan. Maserasi kinetik berarti dilakukan pengadukan kontinyu. Remaserasi berarti dilakukan pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan ekstraksi maserat pertama dan seterusnya.
- b. Perkolasi, adalah ekstraksi pelarut yang selalu baru sampai sempurna yang umumnya pada suhu ruang. Prosesnya didahului dengan pengembangan bahan, tahap maserasi antara, tahap perkolasi sebenarnya (penampungan ekstrak) secara terus menerus sampai diperoleh ekstrak yang jumlahnya 1-5 kali bahan.

2. Cara Panas

- a. Reflux adalah ekstraksi pelarut pada temperatur didihnya selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik.
- b. Soklet, adalah ekstraksi menggunakan pelarut yang selalu baru menggunakan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi kontinyu dengan jumlah pelarut relatif konstan dengan adanya pendingin balik.
- c. Digesi, adalah maserasi kinetik pada temperatur lebih tinggi dari temperatur kamar sekitar 40-50°C.
- d. Destilasi uap, adalah ekstraksi zat kandungan menguap dari bahan dengan uap air berdasarkan peristiwa tekanan parsial zat kandungan menguap dengan fase uap air dari ketel secara kontinyu sampai sempurna dan diakhiri dengan kondensasi fase uap campuran menjadi destilat air bersama kandungan yang memisah sempurna atau sebagian.

2.7 Ekstraksi dengan DME

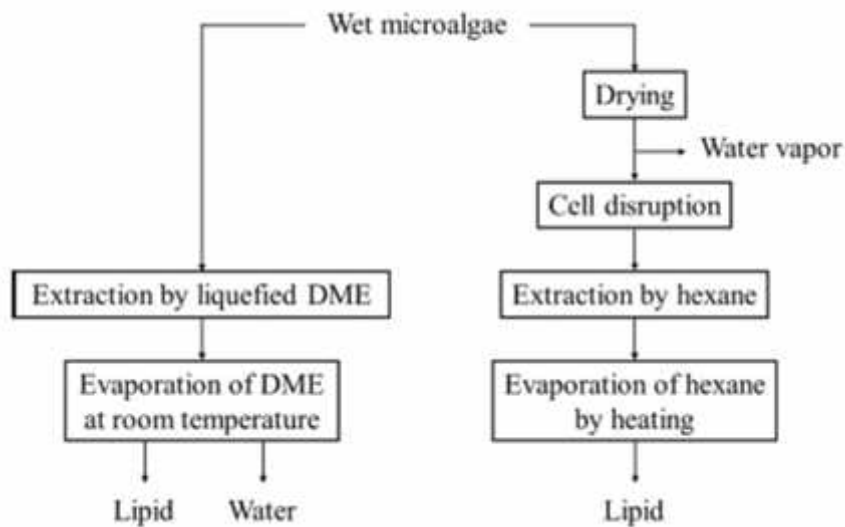
Gambar 2.5 memperlihatkan rangkaian alat metode ekstraksi DME. Adapun komponen utamanya terdiri dari *liquefied DME cylinder / DME storage tank*, kolum ekstraktor (*extractor column*) dan *extraction storage tank* yang dihubungkan secara seri. *Needle valve* berfungsi untuk mengatur *flow rate* dari DME. *DME storage tank* dan kolum ekstraktor diperbuat dari kaca tahan tekanan yang dilapisi dengan polikarbonat (Goto *et al.*, 2015).



Gambar 2.5 Rangkaian Alat Metode Ekstraksi DME

Selain lipid, beberapa senyawa fitokimia seperti astaxanthin (Boonnoun *et al.*, 2014), fucoxanthin (Kanda *et al.*, 2014), klorofil, karetenoid (Noriyasu *et al.*, 2015), flavonoid (Hoshino *et al.*, 2014) serta 8 jenis senyawa xanthone yaitu alpha-mangostin, 3-Isomangostin, Mangostanol, 8-Desoxygartanin, Gartanin, Garcinone E, 9-Hydroxycalabaxanthone dan beta-Mangostin (Nerome *et al.*, 2016) telah diekstrak dengan menggunakan metode ekstraksi DME.

Perbandingan tahapan metode ekstraksi dimetil eter dengan metode ekstraksi konvensional ditunjukkan pada **Gambar 2.6** (Kanda *et al.*, 2015). Secara umum, metode ekstraksi konvensional seperti Sokhletasi bahkan juga ekstraksi superkritik CO_2 melibatkan *pretreatment* seperti pengeringan dan penghalusan sebelum ditambahkan pelarut organik atau dialirkan dengan CO_2 . Pengeringan bertujuan mengurangi atau menghilangkan kandungan air dalam sampel. Sifat air sebagai molekul polar dan memiliki titik didih yang tinggi akibat adanya ikatan hidrogen antar molekulnya akan menghambat kerja pelarut-pelarut pengestrak dalam metode konvensional yang pada umumnya bersifat non polar. Sementara tahap penghalusan dilakukan untuk menghancurkan dinding sel sampel sehingga; i) luas permukaan kontak antara pelarut/solven dengan sampel dapat bertambah, ii) proses difusi masuk/keluar pelarut ke dalam sel sampel lebih baik, dan iii) hambatan transfer massa akan berkurang.



Gambar 2.6 Perbandingan Tahapan Metode Ekstraksi Dimetil Eter dengan Metode Ekstraksi Konvensional

Metode ekstraksi DME lebih unggul berbanding metode konvensional karena tidak melibatkan kedua tahapan tersebut tetapi memberikan hasil yang jauh lebih baik. Goto *et al.* (2015) melaporkan bahwa sebanyak 390 μ g fucoxanthin per berat kering sampel *Undaria pinnatifida* telah diekstrak selama 43 menit menggunakan 286g DME, jumlah ini 7 kali lebih banyak dari hasil yang didapatkan menggunakan superkritis CO₂ yaitu maksimal sebesar 58 μ g fucoxanthin per berat kering sampel *U. pinnatifida* selama 150 menit pada suhu 60°C dan tekanan 40 MPa. Berikutnya, hasil penelitian oleh Boonnoun *et al.* (2014), diperoleh sebanyak 30% lipid per berat kering sampel *Haematococcus pluvialis* dengan menggunakan 195,5g DME, tetapi lipid tidak bisa diekstrak sama sekali ketika digunakan metode ekstraksi pelarut aseton pada sampel *H. pluvialis* kering yang tidak dihaluskan. Penelitian lainnya oleh Kanda *et al.* (2015) mencatatkan sebanyak 32.5% lipid per berat kering *Euglena gracilis* didapatkan dari DME, sementara ekstrak lipid dengan Soxhlet menggunakan *n*-heksan sebesar 31.8% tetapi dilakukan selama 18 jam pada suhu 69°C.

(Halaman ini sengaja dikosongkan)

BAB 3

METODE PENELITIAN

Penelitian ini melibatkan 4 tahapan. Tahap pertama adalah penentuan kandungan air dalam sampel mikroalga basah dengan cara sentrifugasi dan pengeringan. Tahap kedua adalah proses ekstraksi dengan menggunakan metode ekstraksi DME, yang selanjutnya hasil ekstraksinya dibandingkan dengan 2 metode konvensional yaitu ekstraksi dengan cara Sokletasi dan Bligh Dyer. Pada tahap ketiga, dilakukan analisa GC dan GCMS untuk mendeteksi baik komponen-komponen lipid maupun komponen kimia lainnya yang terekstrak dari sampel mikroalga. Untuk tahap terakhir, dilakukan sintesis biodiesel dari lipid yang diekstrak menggunakan metode ekstraksi DME. Biodiesel selanjutnya dianalisa GC untuk menentukan kandungan FAME nya.

3.1 Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sampel mikroalga *Nannochloropsis oculata*, *Nitzschia* sp. dan *Chaetoceros calcitrans* yang berupa *powder* dan *liquid*/basah (sampel didapatkan dari Balai Budidaya Air Payau (BBAP) Situbondo), dimetil eter 99.9% (PT. Bumi Tangerang Gas Industry), *n*-heksana, metanol, kloroform, aquades, *aluminium foil*, kapas dan *glass beads*.

3.2 Alat Penelitian

Alat - alat yang digunakan antara lain alat gelas yang umum digunakan di dalam laboratorium, oven, neraca digital, botol vial, *centrifuge* rangkaian alat Sokhlet, rangkaian alat distilasi, corong pisah, *magnetic stirrer*, rangkaian alat ekstraksi DME, *furnace*, reaktor (kapasitas 5mL).

3.3 Prosedur Penelitian

3.3.1 Tahap Penentuan Kandungan Air (*Moisture Content*) dalam Sampel Mikroalga Basah

Sampel mikroalga basah disentrifugasi dengan kecepatan 500rpm selama 4 menit pada suhu ruangan. Media cair pada lapisan atas kemudiannya didekantasi untuk memisahkan biomassa mikroalga yang terendap pada lapisan bawah. Mikroalga yang terendap (masih dalam kondisi basah) ditimbang sebanyak 6g lalu dikeringkan di dalam oven pada suhu 100°C sehingga diperoleh berat konstan / tidak berubah. Berat konstan ini merupakan berat kering mikroalga. Pengukuran dilakukan secara duplo untuk menentukan berat kering rata-rata. Kandungan air pada mikroalga ditentukan menggunakan **Persamaan (1)**.

$$\text{Kandungan air (\%)} = \frac{\text{Berat basah mikroalga} - \text{Berat kering mikroalga}}{\text{Berat basah mikroalga}} \times 100\% \quad (1)$$

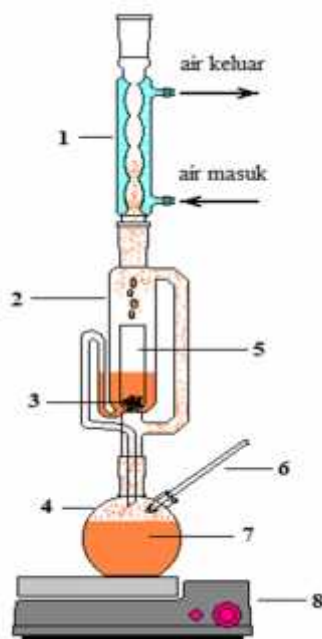
$$\begin{aligned} \text{Berat kering mikroalga (\%)} \\ = \frac{\text{Berat kering mikroalga}}{\text{Berat basah mikroalga}} \times 100\% \end{aligned} \quad (2)$$

3.3.2 Tahap Ekstraksi

A. Metode Ekstraksi Sokletasi

Metode ekstraksi Sokletasi menggunakan sampel mikroalga kering yang berupa bubuk (*powder*). Rangkaian alat untuk ekstraksi Sokletasi diperlihatkan pada **Gambar 3.1**. Adapun kondisi prosesnya adalah seperti berikut : Berat sampel mikroalga kering, 20g ; pelarut *n*-heksana, 200mL ; suhu, 69°C; waktu, 12 jam. Hasil ekstraksi lalu didistilasi dengan menggunakan kondensor Liebig pada suhu 69°C untuk memisahkan ekstrak dengan pelarut *n*-heksan. Ekstrak lalu dikeringkan dan ditimbang. *Yield, dry basis* hasil ekstraksi dihitung menggunakan **Persamaan (3)**. Ekstrak selanjutnya dianalisa dengan GC. (Selama belum dianalisa, botol vial yang berisi ekstrak dibungkus dengan aluminium foil dan disimpan didalam kulkas, untuk menghindari terjadinya degradasi senyawa-senyawa yang bersifat labil. Hal ini juga dilakukan pada hasil ekstrak dari metode Bligh Dyer dan DME.

$$\begin{aligned} \text{Yield, dry basis (\%)} \\ = \frac{\text{Berat ekstrak (g)}}{\text{Berat powder mikroalga (20g)}} \times 100\% \end{aligned} \quad (3)$$



Keterangan :

1. Kondensor
2. *Extraction chamber*
3. Sampel
4. Labu alas bulat
5. Timbel
6. Termometer
7. Pelarut (*n*-heksan)
8. *Heating mantle*

Gambar 3.1 Rangkaian Alat Sokhlet

B. Metode Ekstraksi Bligh Dyer

Metode ekstraksi Bligh Dyer menggunakan sampel mikroalga basah yang telah disentrifugasi dengan kondisi yang sama seperti dilakukan pada Prosedur 3.3.1. Sampel mikroalga basah sebanyak 6g ditambahkan dengan 30mL campuran pelarut metanol-klorofom (2;1, v/v) lalu diaduk dengan *magnetic stirrer* selama 15 menit. Kemudian ditambahkan 10mL pelarut klorofom dan 10mL aquades secara berurutan, dimana setiap kali penambahan akan dilakukan pengadukan dengan cara dan waktu yang sama . Campuran selanjutnya dipindahkan ke dalam corong pisah dan dibiarkan beberapa jam sehingga terbentuk 3 lapisan. Lapisan bawah yang merupakan lapisan klorofom kemudiannya dipisahkan dan pelarut klorofom diuapkan untuk memperoleh ekstrak. *Yield* bagi *wet basis* dan *dry basis* dihitung masing-masing menggunakan **Persamaan (4)** dan **(5)** . Berat kering mikroalga dari masing-masing spesies mikroalga diketahui dari Prosedur 3.3.1. Ekstrak berikutnya dianalisa dengan GC.

Yield, wet basis (%)

$$= \frac{\text{Berat ekstrak (g)}}{\text{Berat basah mikroalga (g)}} \times 100\% \quad (4)$$

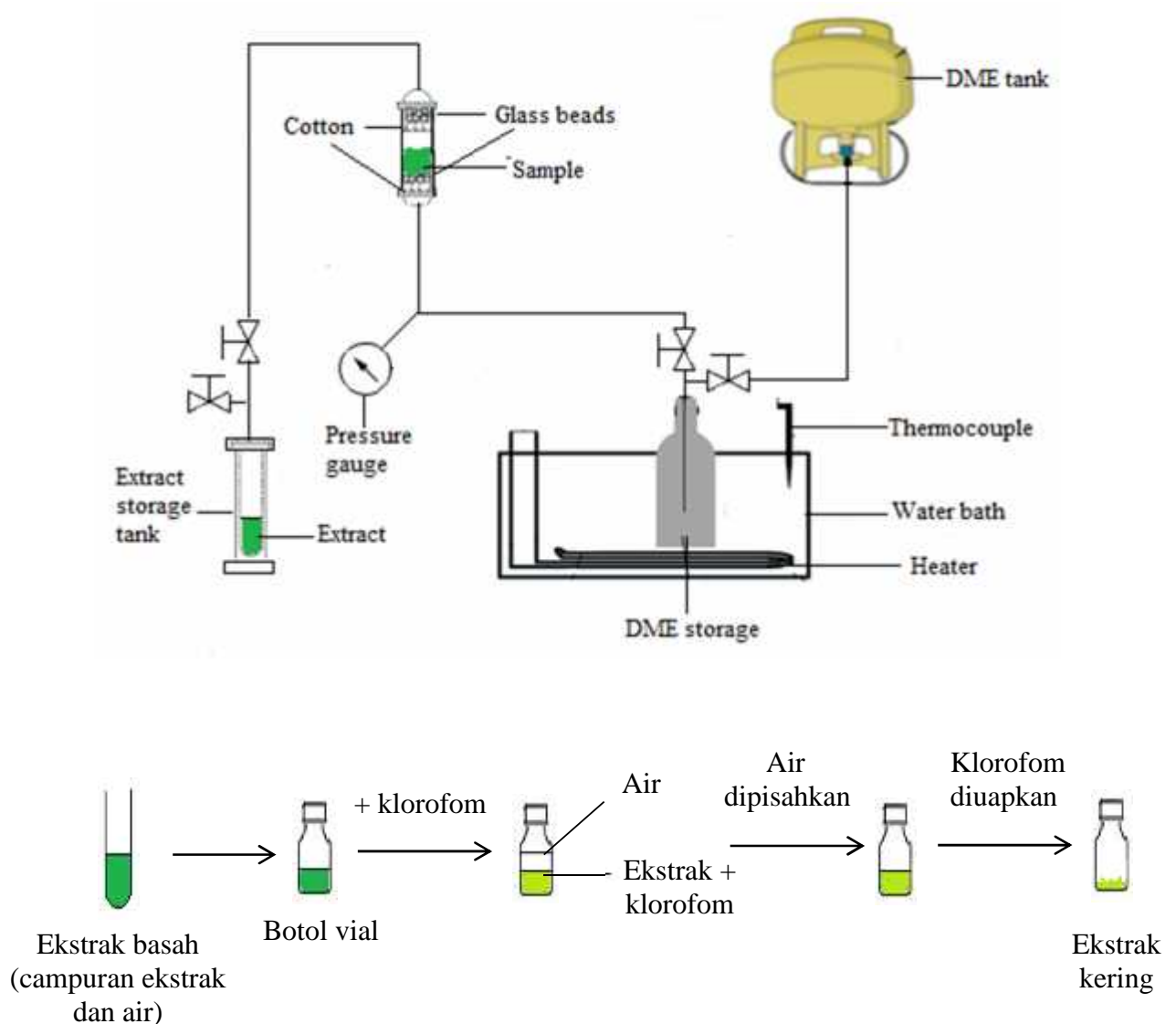
$$\text{Yield, dry basis (\%)} = \frac{\text{Berat ekstrak (g)}}{\text{Berat kering mikroalga (g)}} \times 100\% \quad (5)$$

C. Metode Ekstraksi DME

C.1 Penentuan Pengaruh Jumlah DME terhadap *Yield* Ekstrak

Rangkaian alat untuk metode ekstraksi DME ditunjukkan pada **Gambar 3.2**. Rangkaian lengkap alatnya dicantumkan pada lampiran. Adapun prosedur untuk metode ini adalah seperti berikut: Berat awal DME *storage* dicatat. Lalu DME dari DME *tank* diisi ke dalam DME *storage* dan berat akhirnya dicatat. Suhu *water bath* diatur menjadi 37°C. Sampel mikroalga basah (yang telah disentrifugasi dengan kondisi yang sama seperti pada Prosedur 3.3.1) sebanyak ± 6 g diisi ke dalam *extractor*. Bagian atas dan bawah *extractor* diisi dengan *glass beads* dan kapas. Selanjutnya, DME dialirkan dari DME *storage* ke *extractor*. Katup ditutup setelah *extractor* terisi penuh dan dibiarkan selama 10 menit. Lalu, DME dialirkan dari *extractor* ke *extraction storage tank*. Langkah ini diulang sehingga semua 20g DME telah dialirkan. Ekstrak yang tertampung pada *extraction storage tank* merupakan campuran dari komponen-komponen kimia mikroalga - DME - air. Untuk memisahkan DME, dibuka *pressure reducing valve* agar DME bisa teruap. Untuk menghilangkan sisa-sisa DME, *extraction storage tank* dipanaskan pada suhu 40-50°C. Berat ekstrak basah ditimbang. Prosedur di atas diulangi untuk variabel jumlah DME lainnya (40g, 60g, 80g dan 100g). *Yield* untuk ekstrak basah dihitung menggunakan **Persamaan (6)**. Air pada ekstrak basah dipisahkan dengan menambahkan klorofom, sehingga terbentuk 2 lapisan. Lapisan atas adalah air, sedangkan lapisan bawah adalah campuran klorofom dan ekstrak. Klorofom kemudiannya diuapkan untuk memperoleh ekstrak. *Yield* ekstrak dihitung menggunakan **Persamaan (5)**. Ekstrak selanjutnya dianalisa dengan GC.

$$Yield (\%) = \frac{\text{Berat basah ekstrak (g)}}{\text{Berat basah mikroalga (g)}} \times 100\% \quad (6)$$



Gambar 3.2 Rangkaian Alat Metode Ekstraksi DME

C.2 Penentuan Pengaruh Suhu terhadap *Yield* Ekstrak

Prosedur C.1 diulangi dengan variabel suhu *water bath* ; 30, 35 dan 40 °C dengan jumlah DME tetap yaitu 100 g.

3.3.3 Tahap Analisa

A. Analisa GC untuk Lipid dari Ekstrak

Lipid pada ekstrak yang diperoleh dari ketiga metode ekstraksi dianalisa menggunakan GC (Shimadzu GC-2010) dengan kolom kapiler (Phenomenex, 15m x 0.32 mm x 0.1 µm), fase diam; ZB-5HT (5%- *Phenyl*)-*methylpolysiloxane*.

Temperatur injektor 370°C. Temperatur oven diprogramkan dari 80°C, meningkat dengan *rate* 15 °C/min menjadi 365 °C dan dipertahankan pada 365 °C selama 8 menit. Nitrogen digunakan sebagai gas pembawa dengan *flow rate* 30cm/s. Volume ekstrak yang diinjeksikan adalah 1µL. Komponen-komponen lipid (FFA, MAG, DAG dan TAG) diidentifikasi berdasarkan perbandingan waktu retensi dari penelitian oleh Aparamarta *et al.* (2016).

B. Analisa GCMS untuk Ekstrak

Ekstrak dianalisa menggunakan GCMS (Hewlett Packard 6890) dengan kolom kapiler (Agilent 19091S-433, 30m x 250µm x 0.25 µm), fase diam; 5% *Phenyl Methyl Siloxane*. Temperatur injektor 300°C. Temperatur oven diprogramkan dari 100°C (2 min), meningkat dengan *rate* 10 °C/min menjadi 150 °C. Helium digunakan sebagai gas pembawa dengan *flow rate* 1mL/min. Volume sampel yang diinjeksikan adalah 1µL. Komponen-komponen kimia diidentifikasi berdasarkan perbandingan waktu retensi dan spektra massa dari data Wiley275 Library.

C. Analisa GC untuk Biodiesel

Biodiesel dianalisa menggunakan GC (Hewlett Packard 6890) dengan kolom kapiler (Agilent 19095N-123, 30m x 530µm x 1µm), fase diam ; *Polyethylene Glycol*. Temperatur injektor 200°C. Temperatur oven diprogramkan dari 140-200 °C pada *rate* 10 °C/min dan dari 200-240 °C pada *rate* 3 °C/min. Helium digunakan sebagai gas pembawa dengan *flow rate* 2mL/min. Volume sampel yang diinjeksikan adalah 1µL.

3.3.4 Tahap Sintesis Biodiesel (FAME, *Fatty Acid Methyl Ester*)

Metode sintesis biodiesel yang digunakan adalah metanol superkritis. Pada tahap ini, ekstrak yang akan dikonversi menjadi biodiesel adalah ekstrak dengan *yield* tertinggi dari masing-masing spesies mikroalga yang didapatkan dari metode ekstraksi DME. Langkah-langkah prosedurnya seperti berikut :

1. Mengeringkan ekstrak basah dari metode ekstraksi DME.
2. Melarutkan ekstrak dengan 5mL metanol lalu mengisinya ke dalam reaktor.
3. Memanaskan reaktor di dalam *furnace* (suhu = 290°C, waktu = 2 jam).

4. Setelah itu, merendamkan reaktor dalam air untuk menghentikan reaksi.
5. Menambahkan 2mL *n*-heksana dan 2mL aquades pada hasil reaksi.
6. Akan teramati 2 lapisan, lalu memisahkan lapisan atas yang mengandung biodiesel.
7. Selanjutnya, menganalisa biodiesel dengan GC.

(Halaman ini sengaja dikosongkan)

BAB 4

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Tahap Penentuan Kandungan Air (*Moisture Content*) dalam Sampel Mikroalga Basah

Tabel 4.1 memperlihatkan nilai kandungan air dalam persen dari masing-masing spesies mikroalga. Metode sentrifugasi digunakan untuk mempercepat proses pemisahan antara media cair dan biomassa mikroalga berdasarkan gaya sentrifugal.

Tabel 4.1 Kandungan Air (*Moisture Content*)

Parameter	<i>Nannochloropsis oculata</i>	<i>Nitzschia</i> sp.	<i>Chaetoceros calcitrans</i>
Berat kering mikroalga (%)	9.20	7.02	6.24
Kandungan air (%)	90.80	92.98	93.76

Kandungan air ditentukan melalui pengukuran secara duplo dengan data-datanya adalah seperti berikut; *N. oculata* : 91.16% (I), 90.44% (II); *Nitzschia* sp. : 93.09% (I), 92.87% (II) dan *C. calcitrans* ; 93.75% (I), 93.77% (II). Berat kering yang didapatkan melalui proses sentrifugasi selama 4 menit, 5 menit atau 10 menit hampir sama, sehingga yang dipilih adalah 4 menit untuk menghemat waktu. Sementara berat mikroalga basah yang ditimbang sebesar 6g untuk disesuaikan dengan jumlah yang sama yang akan dimasukkan ke dalam ekstraktor pada metode ekstraksi DME.

Semakin tinggi kandungan air maka semakin rendah berat kering mikroalga. Berdasarkan **Tabel 4.1** kandungan air terendah tercatat pada *N. oculata* dan hal ini sebanding dengan berat kering yang tertinggi. Penelitian-penelitian terdahulu melaporkan kandungan air pada mikroalga berkisar antara 70-90%. Pengeringan dilakukan pada suhu 100°C sesuai dengan titik didih air.

Sehingga dapat diasumsikan bahwa selain molekul air, kemungkinan ada komponen-komponen kimia yang bersifat volatil yang ikut teruap.

4.2 Tahap Ekstraksi

4.2.1 Metode Ekstraksi Sokletasi

Pelarut yang digunakan pada metode ini ,adalah *n*-heksana, suatu pelarut non polar. Karakteristik ini dapat meningkatkan probabilitas untuk mengekstrak lipid yang umumnya bersifat non polar berdasarkan prinsip “*like dissolve like*”. Sesuai data dari **Tabel 4.2** spesies mikroalga *N. oculata* memiliki *yield* tertinggi sebesar 3.01% diikuti oleh *Nitzschia* sp., 1.81% dan *yield* terendah adalah 0.69% dari *C. calcitrans*. Berdasarkan perbedaan *yield* ini, dapat diasumsikan bahwa pada *N. oculata* mengandung komponen-komponen non polar relatif lebih banyak berbanding pada *Nitzschia* sp. dan *C. calcitrans*.

Tabel 4.2 Hasil Ekstraksi Sokletasi

Parameter	<i>Nannochloropsis oculata</i>	<i>Nitzschia</i> sp.	<i>Chaetoceros calcitrans</i>
Warna ekstrak	Hijau kehitaman	Oranye	Kuning kehitaman
<i>Yield, dry basis</i> (%)	3.01	1.81	0.69

Berat ekstrak yang diperoleh dari ketiga-tiga spesies mikroalga relatif rendah bahkan kurang dari 1g (< 5%) , jauh lebih sedikit berbanding berat awal sampel sebesar 20g. Hal ini dapat dikaitkan dengan ukuran dan geometri molekul pelarut *n*-heksana. *N*-heksana (rumus molekul, C₆H₁₄) memiliki 6 atom karbon yang terhibridisasi sp³, dimana setiap atom karbonnya membentuk ikatan kovalen tunggal dengan sudut tertrahedral. Dengan demikian, rotasi dapat terjadi pada ikatan antar atom-atom karbon. Akibatnya, geometri molekul bagi *n*-heksana bukanlah struktur yang kaku dan linier tetapi dapat berubah-ubah. Hal ini akan mempersulitkan proses difusi molekul-molekul *n*-heksana melewati dinding sel mikroalga.

Proses ini berlangsung pada suhu 69°C yang merupakan titik didih bagi *n*-heksana. Uap-uap *n*-heksana yang naik dari labu alas bulat ke kondenser akan berubah menjadi fase cair melalui proses kondensasi, lalu mengalir masuk ke dalam *thimble* yang berisi sampel. Sehingga sampel selalu terekstrak oleh “pelarut baru”. Waktu ekstraksi adalah selama 12 jam untuk memberi waktu kontak yang lama antara pelarut dan mikroalga, hal ini memungkinkan lebih banyak komponen yang terekstrak.

4.2.2 Metode Ekstraksi Bligh Dyer

Kebalikan dengan data pada **Tabel 4.2**, maka data pada **Tabel 4.3** memperlihatkan perbandingan nilai *yield* seperti berikut ; *yield C. calcitrans* > *yield Nitzschia* sp. > *yield N. oculata*.

Tabel 4.3. Hasil Ekstraksi Bligh Dyer

Parameter	<i>Nannochloropsis oculata</i>	<i>Nitzschia</i> sp.	<i>Chaetoceros calcitrans</i>
Warna ekstrak	Hijau	Coklat pudar	Kuning kehitaman
<i>Yield, wet basis</i> (%)	0.57	0.54	0.66
<i>Yield, dry basis</i> (%)	6.25	7.74	10.58

Berbeda dengan metode ekstraksi Sokletasi yang hanya menggunakan pelarut tunggal, sedangkan pada metode ekstraksi Bligh Dyer menggunakan kombinasi pelarut metanol-klorofom-air. Ukuran molekul metanol (CH₃OH), air (H₂O) dan klorofom (CH₃Cl) lebih kecil berbanding molekul *n*-heksana (C₆H₁₄). Hal ini mempermudah proses difusi masuk ke dalam sel-sel mikroalga. Pelarut metanol dan air tergolong polar sementara pelarut klorofom tergolong semipolar. Molekul klorofom adalah molekul metana (CH₄) dimana 1 atom hidrogennya tersubstitusi 1 atom klor. Molekul metana bersifat non polar, berbeda dengan molekul klorofom yang memiliki 1 atom klor yang lebih elektronegatif dari atom karbon, mengakibatkan klorofom bersifat semipolar. Faktor ini menjelaskan tentang kebalikan nilai *yield* untuk masing-masing spesies mikrolaga pada kedua

metode ekstraksi tersebut. Misalkan, *yield* bagi *C. calcitrans* dari metode ekstraksi Sokletasi tercatat paling rendah tetapi paling tinggi dari metode ekstraksi Bligh Dyer.

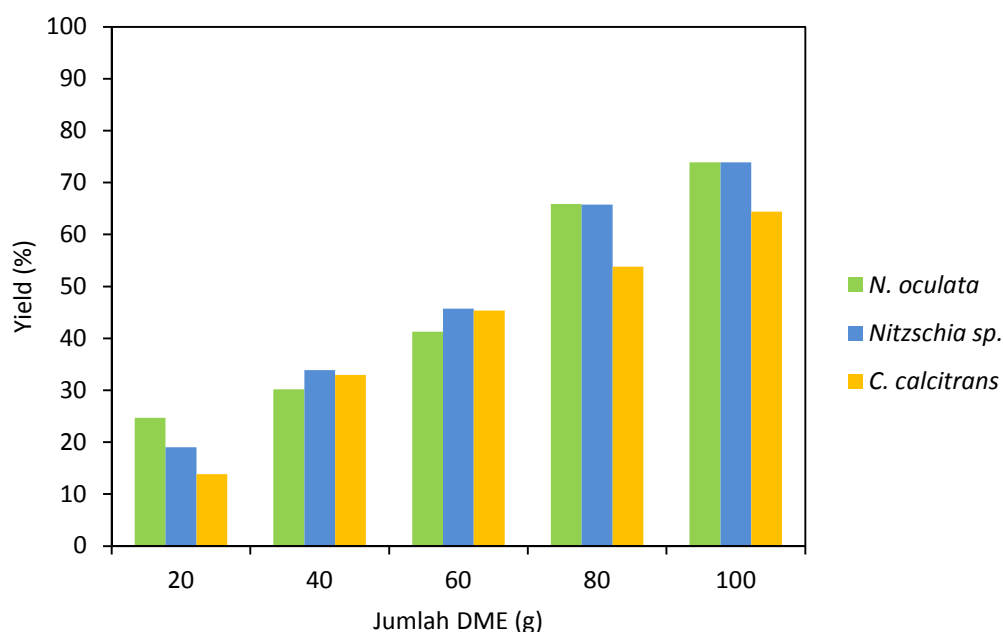
Yield yang didapatkan dari metode ekstraksi Bligh Dyer lebih besar berbanding *yield* pada metode ekstraksi Sokletasi (> 5%). Ada beberapa faktor yang mempengaruhi perbedaan ini. Selain dipengaruhi ukuran molekul dan kepolaran pelarut, juga dipengaruhi proses-proses ekstraksinya. Pada metode ini, melibatkan pengadukan menggunakan *magnetic stirrer* saat penambahan pelarut dan pengocokan saat dilakukan ekstraksi cair-cair dalam corong pisah. Perlakuan ini dapat meningkatkan kontak per satuan luas antara pelarut dengan sampel mikroalga, sehingga dimungkinkan lebih banyak komponen yang terekstrak. Berbeda dalam proses Sokletasi, sampel dalam *extraction chamber* hanya direndam dengan pelarut. Pada ekstraksi cair-cair dalam corong pisah, lapisan atas merupakan campuran pelarut metanol-air dan komponen-komponen non lipid, lapisan tengah merupakan residu mikroalga sedangkan lapisan bawah merupakan pelarut klorofom dan komponen-komponen lipid. Lapisan klorofom terletak di bawah karena memiliki berat jenis yang lebih tinggi.

4.2.3 Metode Ekstraksi DME

Gambar 4.1, 4.2 dan 4.3 memperlihatkan grafik *yield* ekstrak terhadap variabel jumlah DME (20, 40, 60, 80, 100g) pada suhu tetap (37°C). Tekanan yang terbaca pada *pressure gauge* selama ekstraksi untuk semua variabel adalah 0.6 MPa. **Gambar 4.1** adalah *yield* ekstrak untuk berat basah ekstrak (campuran komponen-komponen kimia mikroalga dan air) per berat basah mikroalga (6g). Grafik untuk ketiga spesies mikroalga menunjukkan tren/pola yang sama yaitu *yield* ekstrak bertambah ketika jumlah DME bertambah dari 20g ke 100g. *Yield* ekstrak berkisar dari 13-74%, dimana *yield* tertinggi adalah 73.92% dari *N. oculata* untuk DME sebanyak 100g. Sedangkan *yield* terendah adalah 13.84% dari *C. calcitrans* untuk DME sebanyak 20g.

Salah satu faktor yang mempengaruhi proses ekstraksi adalah jumlah pelarut. Semakin banyak jumlah pelarut maka semakin banyak komponen kimia yang dapat diekstrak dari sampel. Dengan bertambahnya jumlah pelarut DME,

mengakibatkan konsentrasi pelarut diluar sampel lebih tinggi daripada konsentrasi dalam sampel mikroalga. Karena adanya perbedaan konsentrasi, mengakibatkan terjadinya perpindahan/transfer pelarut DME dari luar ke dalam sel mikroalga melalui proses difusi. Semakin besar perbedaan konsentrasi, maka semakin cepat proses difusi. Pertambahan jumlah pelarut juga akan meningkatkan kontak/interaksi antara pelarut DME dengan konmponen-komponen kimia dalam mikroalga, brarti meningkatkan peluang untuk mengesktrak. Selain komponen-komponen kimia dari mikroalga, air sebagai media cair dari mikroalga basah juga ikut terekstrak oleh DME. Hal ini disebabkan molekul-molekul air larut secara parsial dalam DME (Holldorff dan Knapp, 1988) melalui interaksi ikatan hidrogen air dan DME (Cheremisinoff, 2003). Dalam beberapa penelitian, DME digunakan untuk proses *dewatering* (Nerome *et al.*, 2016; Kanda dan Makino, 2010).

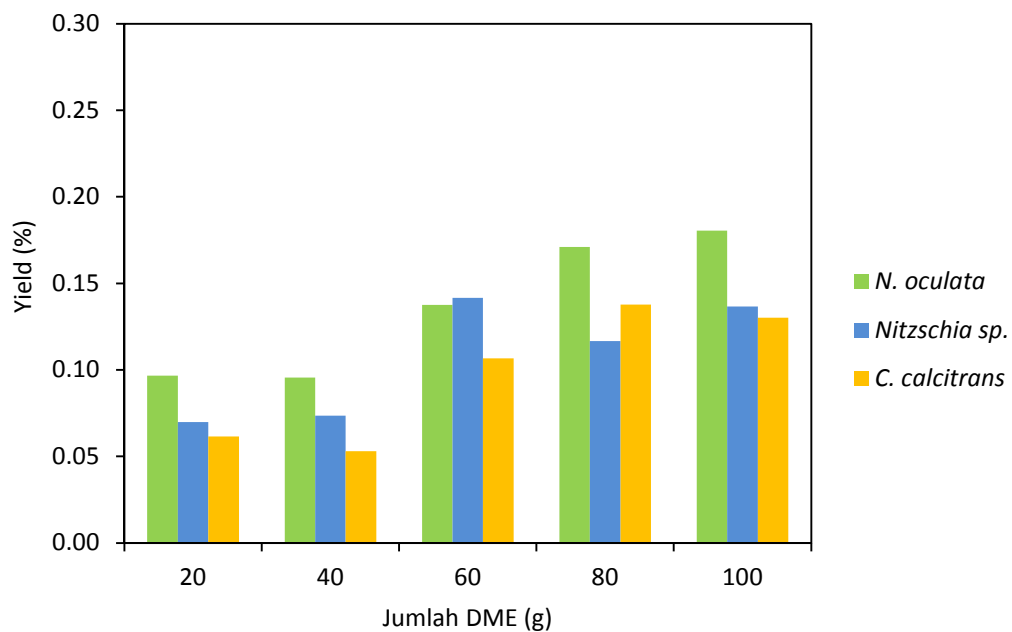


Gambar 4.1 Grafik *Yield* Esktrak (Berat Basah Ekstrak Per Berat Basah Mikroalga) Terhadap Jumlah DME (g) untuk Spesies Mikroalga *N. oculata*, *Nitzschia sp.* dan *C. calcitrans*

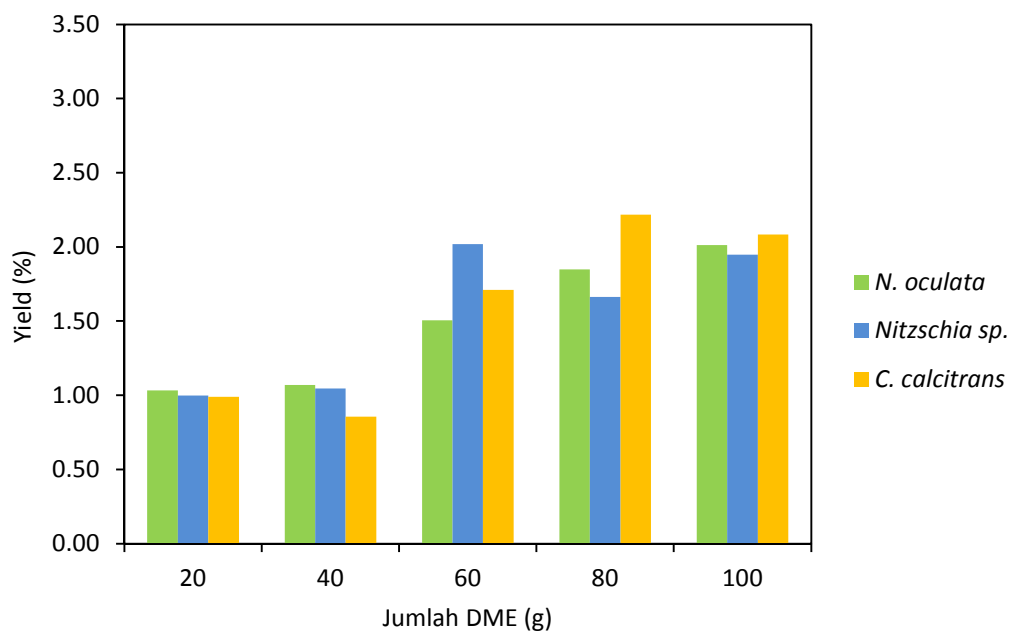
Gambar 4.2 adalah *yield* ekstrak untuk berat kering ekstrak per berat basah mikroalga (\pm 6g). Air dari ekstrak basah dipisahkan dengan cara menambahkan 2-3 mL klorofom dan dibiarkan beberapa jam sehingga terbentuk dua lapisan. Lapisan atas adalah air sedangkan lapisan bawah adalah campuran klorofom-ekstrak. Lapisan klorofom-ekstrak kemudiannya dipanaskan pada suhu 40°C untuk menguapkan klorofom. Pemanasan dilakukan pada suhu yang lebih rendah dari titik didih kloroform (61.2°C) untuk mencegah kemungkinan terjadinya degradasi komponen-komponen ekstrak. Ekstrak kemudiannya ditimbang untuk mendapatkan berat kering.

Pada **Gambar 4.1**, yang terlihat adalah pola menaik, tetapi berbeda dengan **Gambar 4.2** yaitu dengan pola yang tidak beraturan. Hal ini dapat dijelaskan dengan karakteristik dari DME sebagai pelarut yang tidak selektif. DME dapat melarutkan senyawa-senyawa dengan rentang kepolaran yang lebih lebar/luas. DME memiliki rumus struktur $\text{CH}_3\text{-O-CH}_3$, dua gugus metilnya, $\text{CH}_3\text{-}$, dapat berinteraksi dengan senyawa non polar sementara atom O dapat berinteraksi dengan senyawa polar. Akibatnya, air yang bersifat polar juga ikut tereskrak. Dengan demikian, *yield* ekstrak basah (akumulasi dari komponen kimia mikroalga dan air yang tereskrak) adalah berbanding lurus dengan peningkatan jumlah DME seperti terlihat pada **Gambar 4.1**. Tetapi *yield* ekstrak kering (air telah dipisahkan) tidak berbanding lurus dengan peningkatan jumlah DME seperti ditunjukkan pada **Gambar 4.2**.

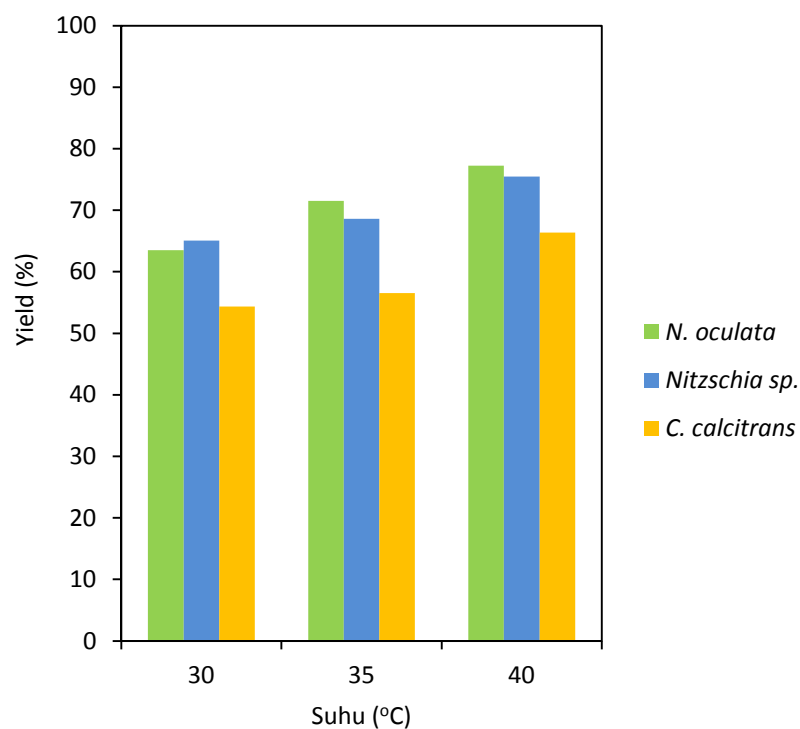
Gambar 4.3 adalah *yield* ekstrak untuk berat kering ekstrak per berat kering mikroalga. Berat kering masing-masing mikroalga tercantum pada **Tabel 4.1**. *Yield* tertinggi untuk ketiga spesies mikroalga adalah sekitar 2%.



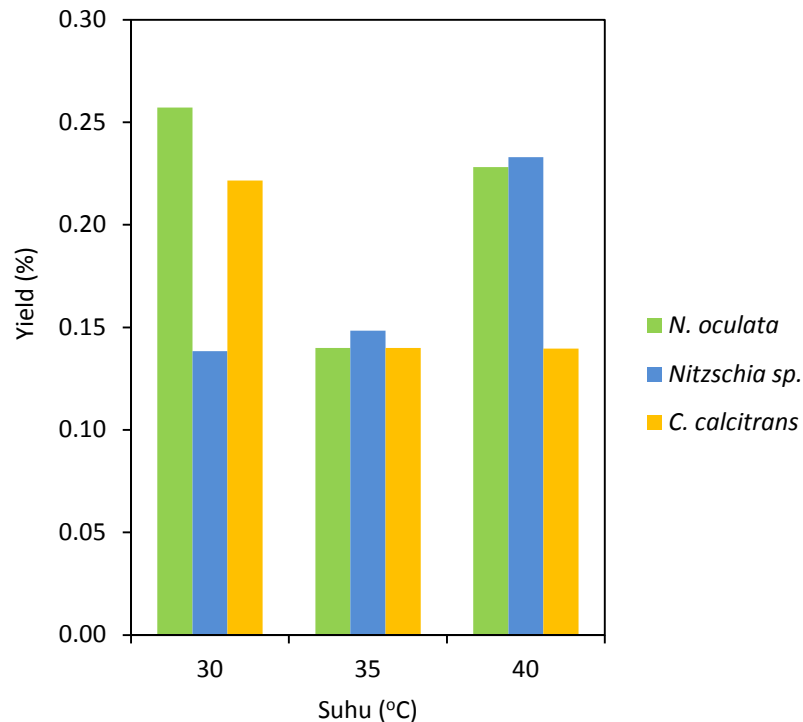
Gambar 4.2 Grafik *Yield* Ekstrak (Berat Kering Ekstrak Per Berat Basah Mikroalga) Terhadap Jumlah DME (g) untuk Spesies Mikroalga *N. oculata*, *Nitzschia sp.* dan *C. calcitrans*



Gambar 4.3 Grafik *Yield* Ekstrak (Berat Kering Ekstrak Per Berat Kering Mikroalga) Terhadap Jumlah DME (g) untuk Spesies Mikroalga *N. oculata*, *Nitzschia* sp. dan *C. calcitrans*



GAMBAR 4.4 Grafik *Yield* Ekstrak (Berat Basah Ekstrak Per Berat Basah Mikroalga) Terhadap Suhu (°C) untuk Spesies Mikroalga *N. oculata*, *Nitzschia* sp. dan *C. calcitrans*

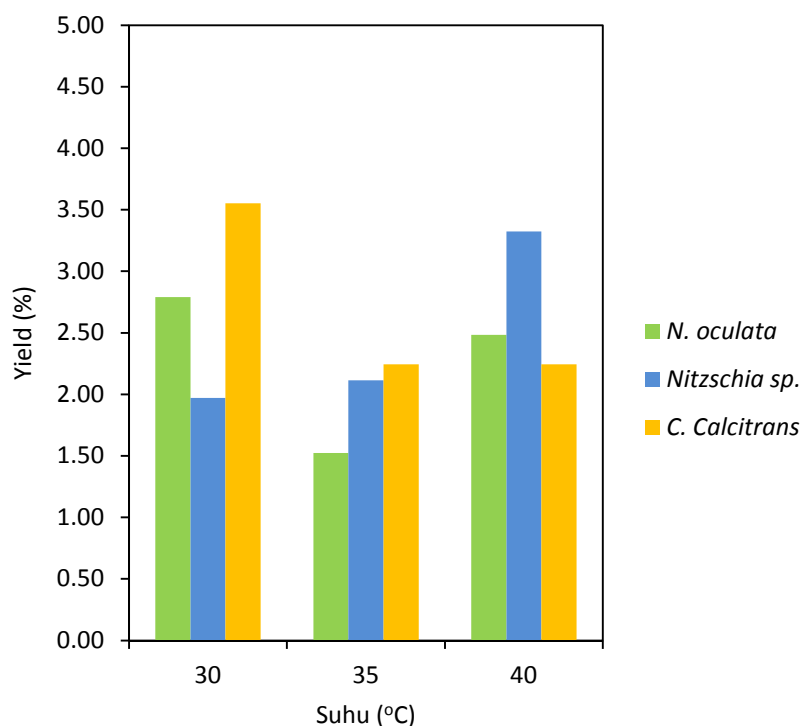


GAMBAR 4.5 Grafik *Yield* Ekstrak (Berat Kering Ekstrak Per Berat Basah Mikroalga) Terhadap Suhu (°C) untuk Spesies Mikroalga *N. oculata*, *Nitzschia sp.* dan *C. calcitrans*

Gambar 4.4, 4.5 dan 4.6 menunjukkan grafik *yield* ekstrak terhadap variabel suhu (30,35 dan 40 °C) pada jumlah DME tetap (100g). Tekanan yang terbaca pada *pressure gauge* selama ekstraksi untuk semua variabel suhu adalah 0.6MPa. Faktor lainnya yang mempengaruhi proses ekstraksi adalah suhu. Secara umum, hasil ekstraksi akan bertambah jika suhu bertambah. Hal ini sesuai dengan hasil yang diperoleh seperti terlihat pada ketiga **Gambar 4.4** yaitu *yield* meningkat dengan peningkatan suhu. Dengan meningkatnya suhu, energi kinetik molekul-molekul pelarut DME akan bertambah, sehinggakan molekul-molekul DME akan bergerak dengan lebih cepat. Hal ini mengakibatkan jarak antar molekul juga ikut bertambah, maka jumlah molekul per satuan volume akan berkurang. Dengan demikian, densitas pelarut DME akan berkurang. Hal ini mempermudah proses difusi molekul-molekul DME melewati dinding sel

mikroalga. Penurunan densitas pelarut juga meningkatkan kemampuannya untuk melarutkan komponen-komponen kimia dalam mikroalga.

Berdasarkan grafik, *yield* tertinggi pada suhu 30 °C adalah *yield* dari *Nitzschia* sp. sebesar 65.08%. Sementara *yield* tertinggi pada suhu 35°C dan 40°C adalah *yield* dari *N. oculata* masing-masing sebesar 71,52% dan 77,24%. Seperti halnya pada **Gambar 4.1**, maka **Gambar 4.4** juga memperlihatkan pola grafik yang menaik tetapi pola grafik tidak beraturan untuk **Gambar 4.3** dan **Gambar 4.6**. Hal ini disebabkan oleh sifat tidak selektif DME sebagai pelarut. Dalam proses ini, suhu yang digunakan maksimal sampai suhu 40°C, untuk menghindari kerusakan alat pada suhu yang lebih tinggi.



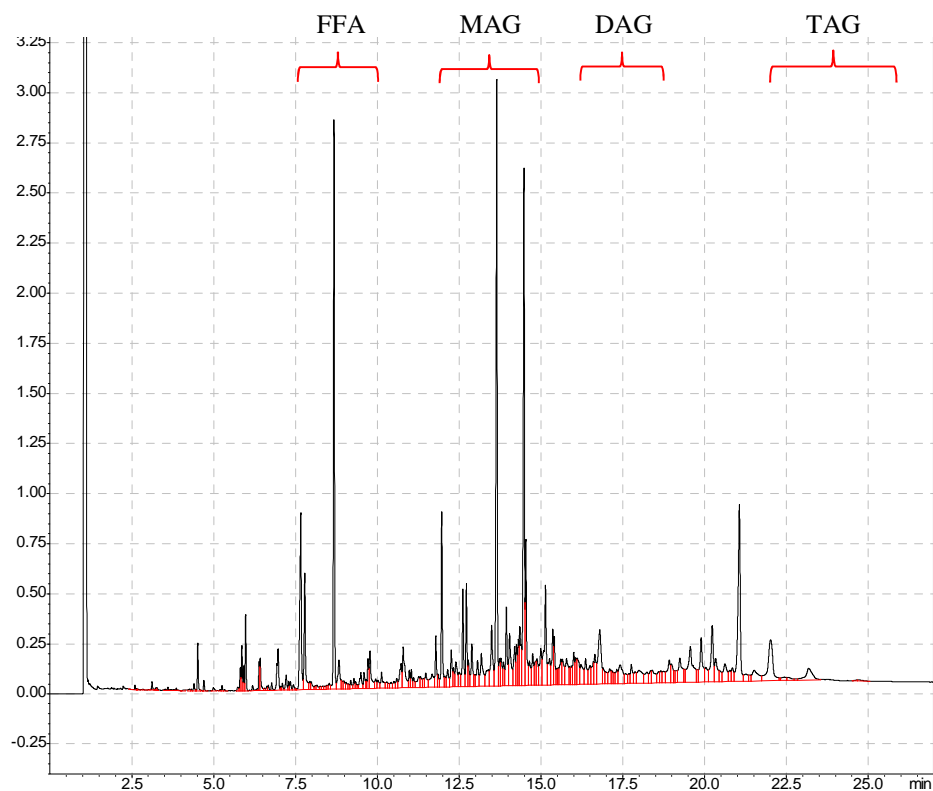
GAMBAR 4.6 Grafik *Yield* Ekstrak (Berat Kering Ekstrak Per Berat Kering Mikroalga) Terhadap Suhu (°C) untuk Spesies Mikroalga *N. oculata*, *Nitzschia* sp. dan *C. calcitrans*

4.3 Tahap Analisa

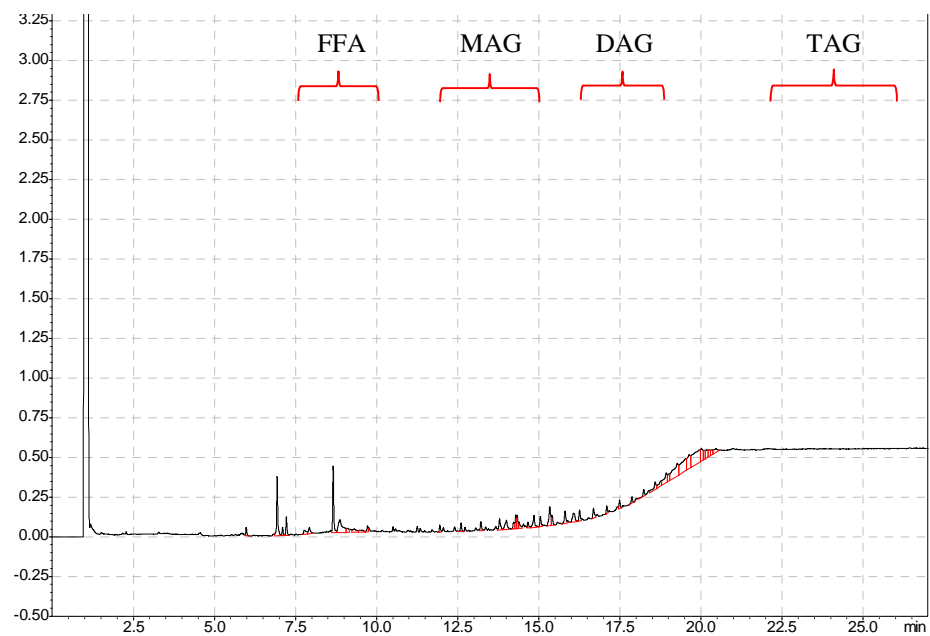
4.3.1 Analisa GC untuk Lipid dari Ekstrak

Analisa GC dilakukan untuk menentukan *yield* lipid pada ekstrak yang didapatkan dari masing-masing metode ekstraksi. Adapun lipid terdiri dari empat komponen yaitu asam lemak bebas (*free fatty acid*, FFA), monogliserida (*monoacylglycerol*, MAG), digliserida (*diacylglycerol*, DAG) dan trigliserida (*triacylglycerol*, TAG). Berdasarkan acuan penelitian oleh Aparamarta *et al.* (2016), lipid terdeteksi pada retensi waktu (*retention time*) berikut ; menit 7.5-10 (FFA), menit 12.25-15 (MAG), menit 16.5-18.5 (DAG) dan menit 22-26 (TAG). Retensi waktu dari tiap komponen lipid berbeda-beda karena memiliki berat molekul dan struktur kimia yang berbeda. TAG memiliki berat molekul yang paling besar berbanding tiga komponen lipid lainnya, sehingga terdistribusi paling lama melewati kolom. TAG juga memiliki jumlah rantai alkil, R, paling banyak yaitu sebanyak 3 rantai. Dengan 3 rantai alkil yang bersifat non polar, TAG terabsorpsi dengan kuat pada kolom GC yang berisi fase diam non polar, (5%-*phenyl*)-*methylpolysiloxane*. Hal ini menjelaskan TAG memiliki retensi waktu terbesar sedangkan FFA memiliki retensi waktu terendah.

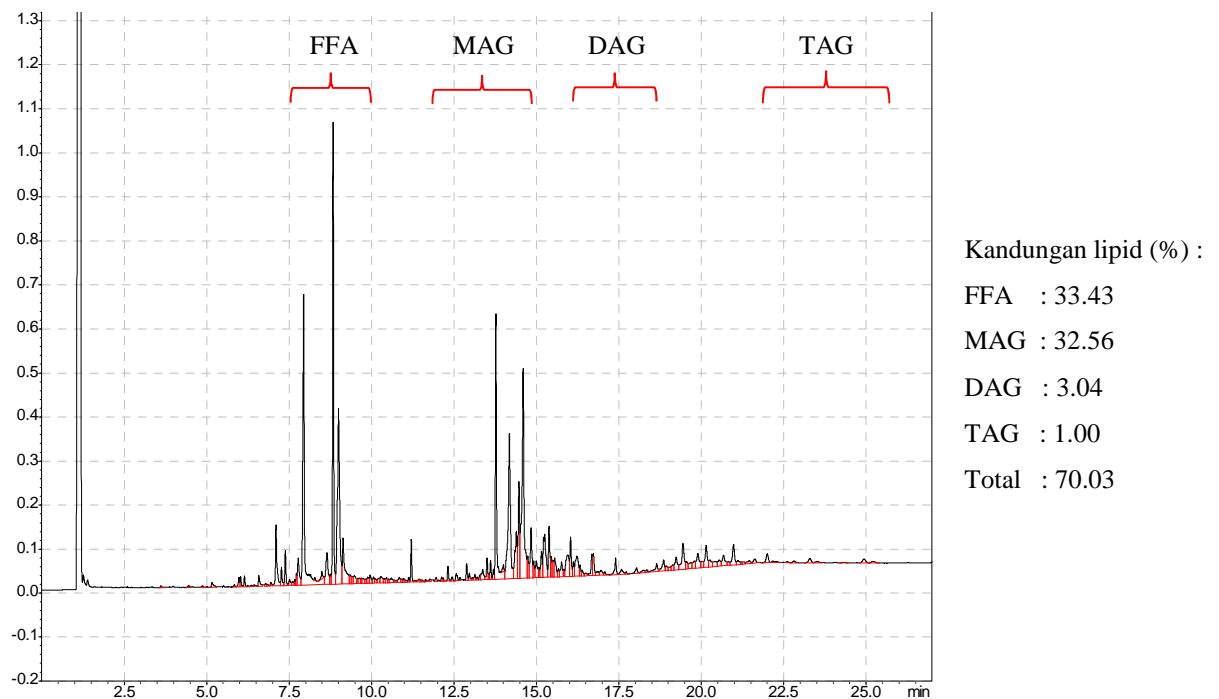
Kromatogram GC untuk ekstrak *N. oculata* dari masing-masing metode ekstraksi diperlihatkan pada **Gambar 4.7**. Pada metode DME, ekstrak yang dianalisa adalah hasil akumulasi 5 kali ekstraksi pada suhu 40°C dengan jumlah DME sebanyak 100g. Akumulasi 5 kali ekstraksi dilakukan untuk memperbanyak jumlah ekstrak. Berbanding jika hanya satu kali ekstraksi dengan kemungkinan jumlah ekstrak yang didapatkan sedikit akibat sifat tidak selektif dari DME. Sementara itu, untuk pemilihan variabel suhu (40°C) dan jumlah DME (100g) adalah atas pertimbangan bahwa rata-rata *yield* tertinggi diamati pada variabel tersebut seperti dijelaskan pada **Gambar 4.1** sampai **Gambar 4.6**.



(a)



(b)



(c)

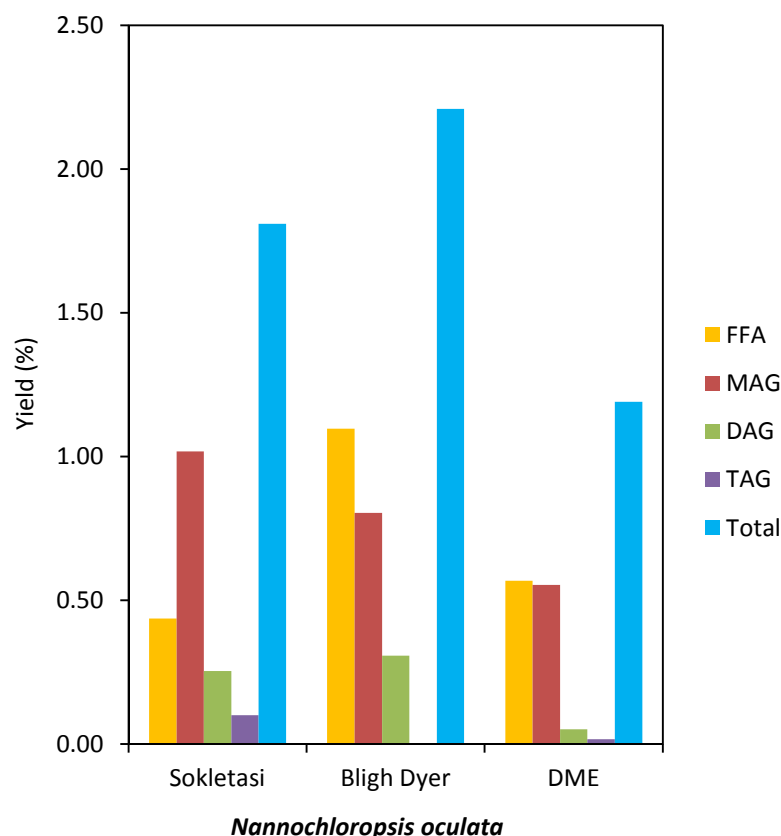
Gambar 4.7. Kromatogram GC untuk Ekstrak *N. oculata* dengan Metode Ekstraksi (a) Sokletasi, (b) Bligh Dyer dan (c) DME (5x Ekstraksi, DME=100g, Suhu 40°C)

Total kandungan lipid pada ekstrak Sokletasi, Bligh Dyer dan DME adalah sebesar 60.05%, 35.34% dan 70.03% masing-masing. Namun demikian, kandungan FFA, MAG, DAG dan TAG dari ketiga ekstrak adalah berbeda-beda.

Gambar 4.8 menampilkan grafik perbandingan *yield* (%) bagi FFA, MAG, DAG dan TAG pada ekstrak *N. oculata* dari ketiga metode ekstraksi. *Yield* dari setiap komponen lipid dihitung menggunakan **Persamaan [5]**. Berat kering mikroalga, berat kering ekstrak Sokletasi dan berat kering ekstrak Bligh Dyer tercantum pada **Tabel 4.1**, **Tabel 4.2** dan **Tabel 4.3** masing-masing. Adapun berat kering ekstrak DME dari *N. oculata* untuk 5 kali ekstraksi adalah sebesar 0.0469g.

$$Yield (\%) = \frac{\text{Kandungan lipid (FFA, MAG, DAG atau TAG)} \times \text{Berat kering ekstrak}}{\text{Berat kering mikroalga}} \times 100\% \quad \text{Persamaan [5]}$$

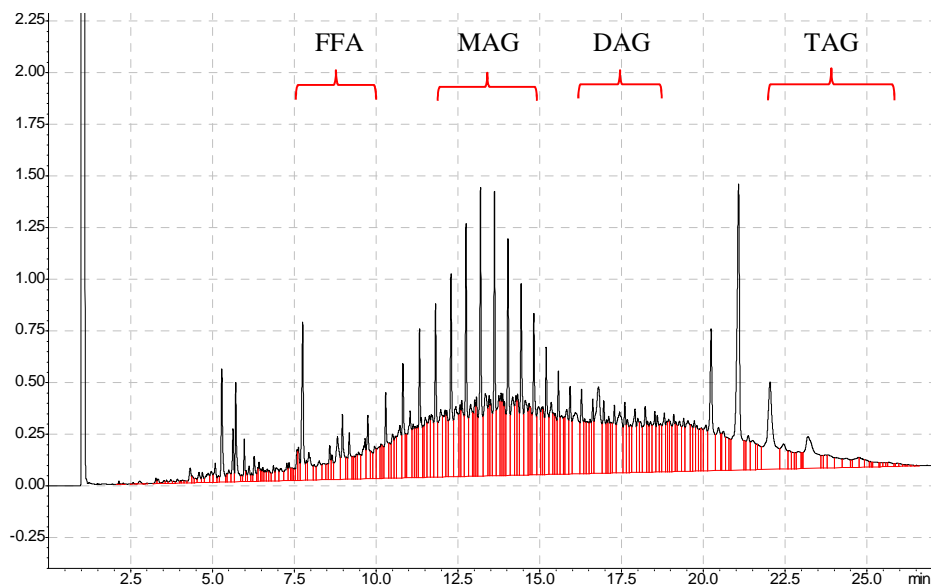
Berdasarkan **Gambar 4.8**, diketahui *yield* FFA, 1.10% dan DAG, 0.31% tertinggi dari ekstrak Bligh Dyer sementara *yield* MAG, 1.02% dan TAG, 0.10% tertinggi dari ekstrak Sokletasi.



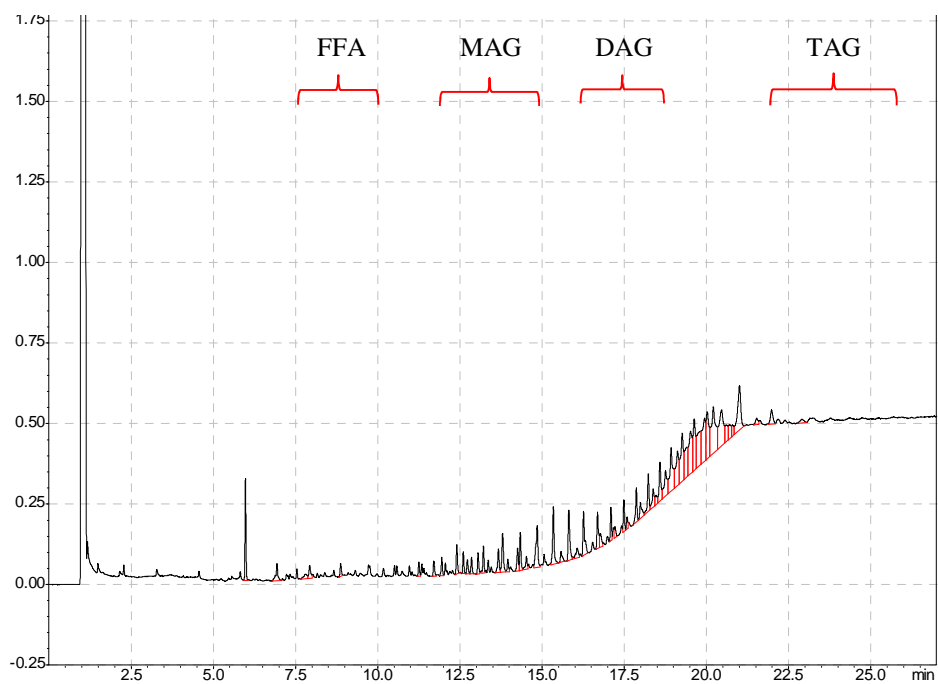
Gambar 4.8 Grafik Perbandingan *Yield* (%) FFA, MAG, DAG dan TAG pada Ekstrak *N. oculata* dari Metode Ekstraksi Sokletasi, Bligh Dyer dan DME.

Pada spesies *Nitzschia* sp., total kandungan lipid dari ekstrak Sokletasi, Bligh Dyer dan DME adalah sebesar 52.90%, 27.12% dan 73.30% masing-masing seperti yang ditunjukkan pada **Gambar 4.9**. Namun berdasarkan kromatogram ekstrak Sokletasi pada **Gambar 4.9(a)**, diperkirakan persen dari masing-masing komponen lipid lebih kecil dari yang dihitung. Hal ini disebabkan *peak-peak* pada kromatogram berada jauh diatas garis *baseline*, sehingga berpengaruh terdapat *area* setiap *peak*. Adapun berat kering ekstrak DME untuk 5 kali ekstraksi adalah sebesar 0.0322g. Pada **Gambar 4.10**, diketahui *yield* FFA, 0.14%

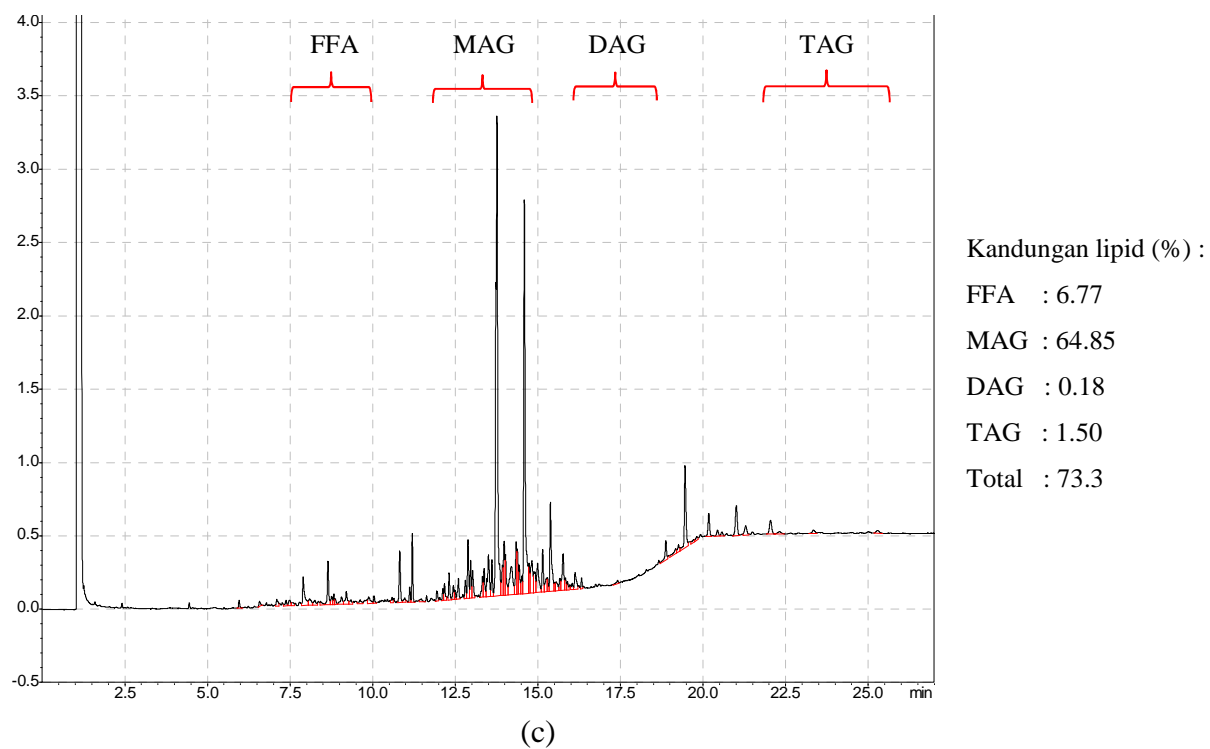
dan TAG, 0.13% tertinggi dari ekstrak Sokletasi sementara *yield* MAG, 1.06% dan DAG, 0.87% tertinggi dari ekstrak Bligh Dyer.



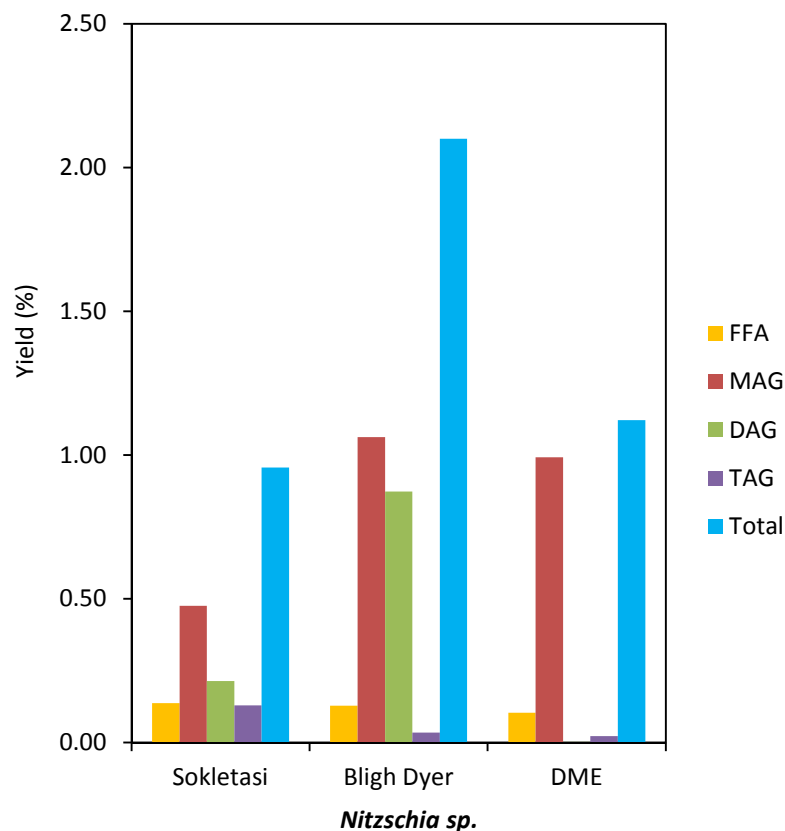
(a)



(b)

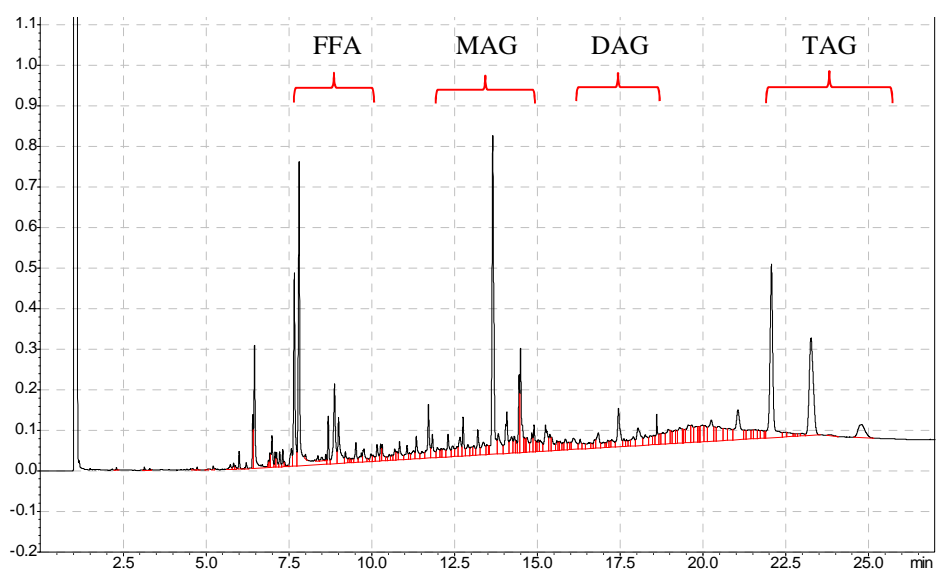


Gambar 4.9 Kromatogram GC untuk Ekstrak *Nitzschia* sp. dengan Metode Ekstraksi (a) Sokletasi, (b) Bligh Dyer dan (c) DME (5x Ekstraksi, DME=100g, Suhu 40°C)

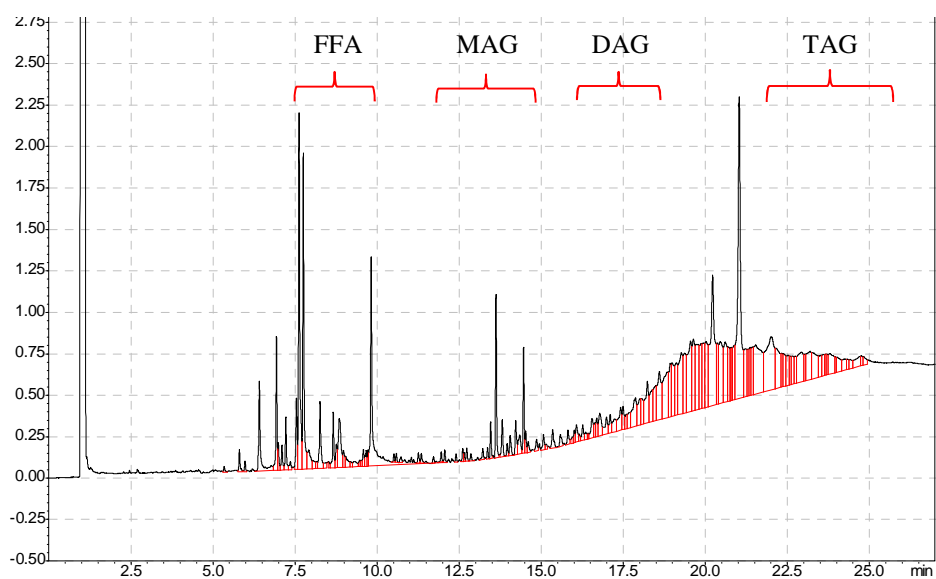


Gambar 4.10 Grafik Perbandingan *Yield (%)* FFA, MAG, DAG dan TAG pada Ekstrak *Nitzschia sp.* dari Metode Ekstraksi Sokletasi, Bligh Dyer dan DME.

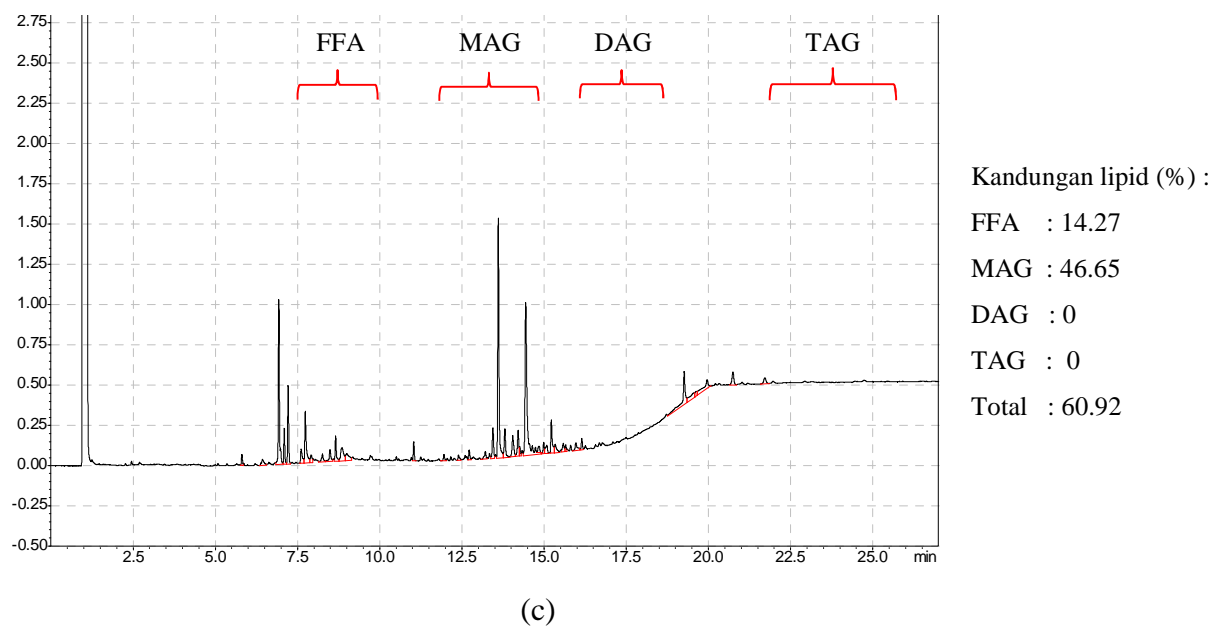
Gambar 4.11 menunjukkan kromatogram GC untuk ekstrak *C. calcitrans*. Adapun kandungan lipid pada ekstrak Sokletasi, Bligh Dyer dan DME adalah sebesar 63.08%, 47.92% dan 60.92% masing-masing. Seperti halnya kromatogram pada Gambar 12(a), maka kromatogram pada Gambar 14(b) juga terlihat *peak-peak* dengan retensi waktu diatas menit ke 17.5 berada jauh dari garis *baseline*. Hal ini berarti kandungan lipid untuk DAG dan TAG yang sebenarnya lebih rendah dari yang dihitung. Berat kering ekstrak DME *C. calcitrans* untuk 5 kali ekstraksi adalah sebesar 0.0266g. Berdasarkan **Gambar 4.12**, *yield* FFA, 1.75%, DAG, 0.93% dan TAG, 1.81% tertinggi dari ekstrak Bligh Dyer sementara *yield* MAG, 0.66%, tertinggi dari ekstrak DME.



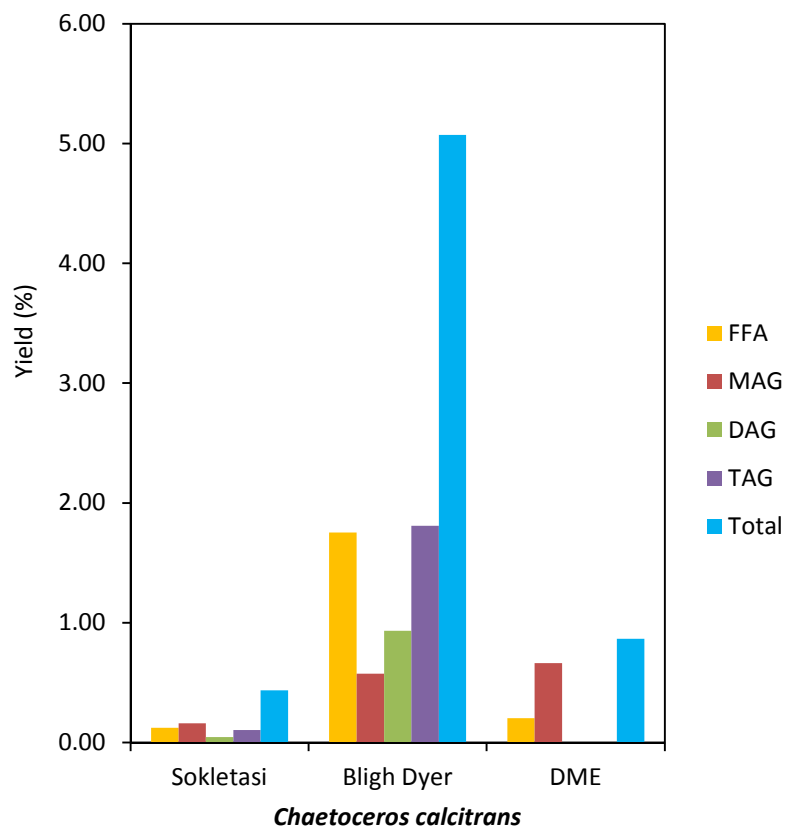
(a)



(b)



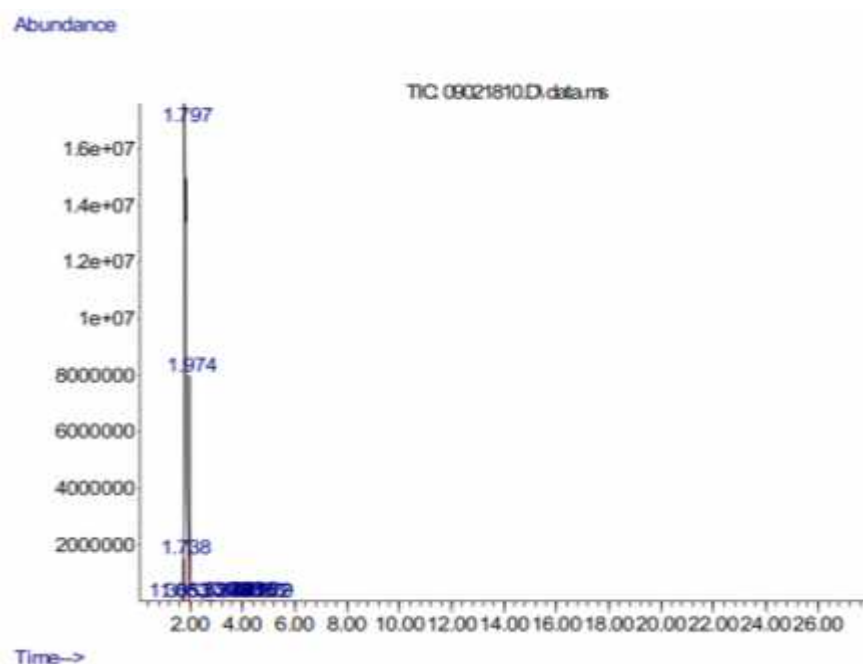
Gambar 4.11 Kromatogram GC untuk Ekstrak *C. calcitrans* dengan Metode Ekstraksi (a) Sokletasi, (b) Bligh Dyer dan (c) DME (5x Ekstraksi, DME=100g, Suhu 40°C)



Gambar 4.12 Grafik Perbandingan *Yield (%)* FFA, MAG, DAG dan TAG pada Ekstrak *C. calcitrans* dari Metode Ekstraksi Sokletasi, Bligh Dyer dan DME

4.3.2 Analisa GCMS untuk Ekstrak

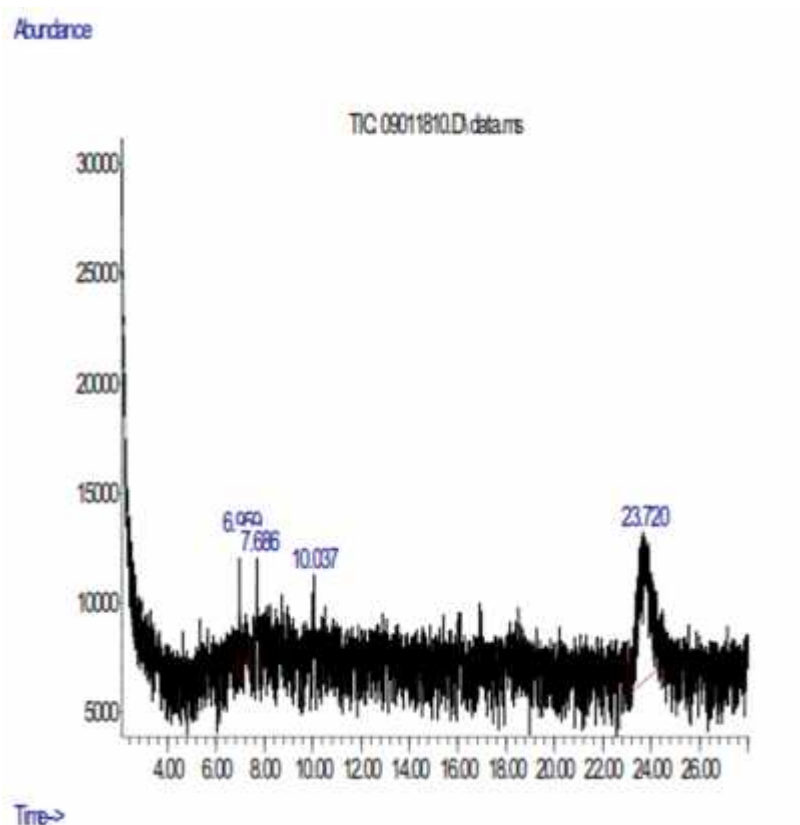
Analisa GCMS hanya dilakukan pada satu spesies mikroalga bertujuan untuk membandingkan komponen-komponen kimia apa saja yang dapat diekstrak dengan ketiga metode ekstraksi. Spesies mikroalga yang dianalisa adalah *C. calcitrans*. Kromatogram GCMS bagi ekstrak Sokletasi ditampilkan pada **Gambar 4.13**, ekstrak Bligh Dyer pada **Gambar 4.14** dan ekstrak DME pada **Gambar 23**.



Gambar 4.13 Kromatogram GCMS untuk Ekstrak *C. calcitrans* dengan Metode Ekstraksi Sokletasi

Tabel 4.4. Hasil GCMS – Ekstrak *C. calcitrans* (Sokletasi)

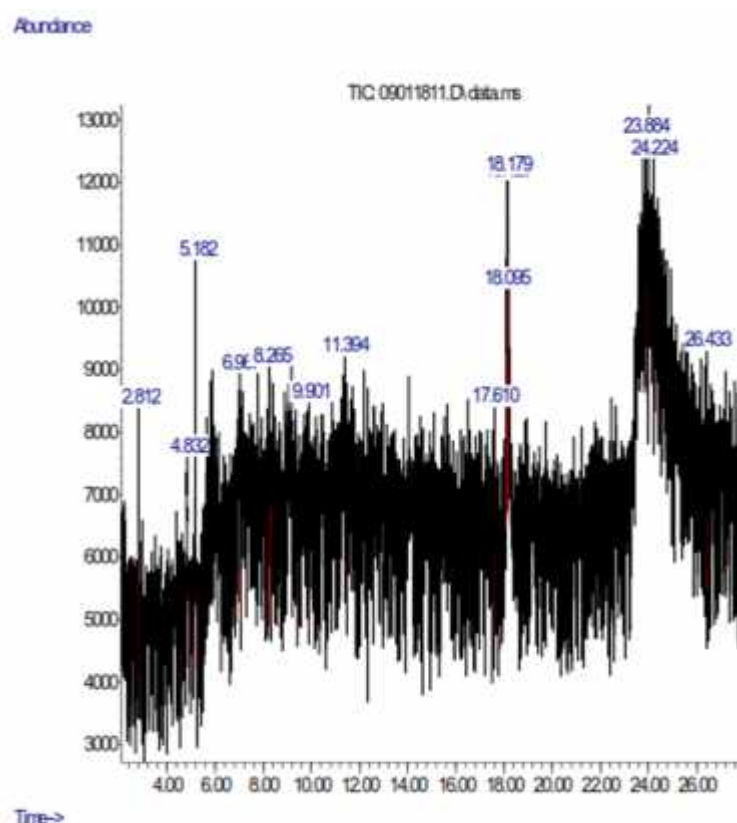
Peak	Waktu retensi (min)	Area (%)	Komponen kimia	Rumus molekul
1	1.304	0.06	epoksi etana	C_2H_4O
2	1.685	0.02	1,4-butanediamin	$C_4H_{12}N_2$
3	1.738	2.50	3-metilpentana	C_6H_{14}
4	1.796	74.68	Heksana	C_6H_{14}
5	1.976	22.39	Metilsiklopentana	C_6H_{12}
6	3.235	0.05	2-metilheptana	C_8H_{18}
7	3.340	0.05	3-metilheptana	C_8H_{18}
8	3.451	0.06	2-butenilhidrazon asetaldehid	$C_6H_{12}N_2$
9	3.726	0.04	trans-1,3-dimetilsikloheksana	C_8H_{16}
10	3.843	0.01	cis-1,4-dimetilsikloheksana	C_8H_{16}
11	4.287	0.07	Etilsikloheksana	C_8H_{16}
12	4.588	0.03	1,3,5-trimetilsikloheksana	C_9H_{18}
13	4.763	0.03	Pentadekana	$C_{15}H_{32}$
14	4.879	0.01	3-metiloktana	C_9H_{20}



Gambar 4.14 Kromatogram GCMS untuk Ekstrak *C. calcitrans* dengan Metode Ekstraksi Bligh Dyer

Tabel 4.5 Hasil GCMS – Ekstrak *C. calcitrans* (Bligh Dyer)

Peak	Waktu retensi (min)	Area (%)	Komponen kimia	Rumus molekul
1	6.958	5.68	Sianamida	CH_2N_2
2	7.688	8.34	N,N'-dietilurea	$\text{C}_5\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}$
3	10.036	7.36	Propanamida	$\text{C}_3\text{H}_7\text{NO}$
4	23.718	78.63	(2,3,4,5-tetrahidroksi-2,4-siklopentadien-1-on) ferum trikarbonil	$\text{C}_5\text{H}_4\text{O}_5 \cdot \text{Fe}(\text{CO}_3)$



Gambar 4.15 Kromatogram GCMS untuk Ekstrak *C. calcitrans* dengan Metode Ekstraksi DME (DME=100g, Suhu 40°C)

Tabel 4.6 Hasil GCMS – Ekstrak *C. calcitrans* (DME=100g, Suhu 40°C)

Peak	Waktu retensi (min)	Area (%)	Komponen kimia	Rumus molekul
1	2.812	2.38	oktametil siklotetrasiloksan	$C_8H_{24}O_4Si_4$
2	4.832	9.7	3,3-dimetilpiperidin	$C_7H_{15}N$
3	5.181	16.27	2,6-dimetil-4H-piran-4-on	$C_7H_8O_2$
4	6.969	19.01	asetaldehid	C_2H_4O
5	8.264	7.54	5-metilheptan-2-amin	$C_8H_{19}N$
6	9.904	3.07	propana-2-13C	C_3H_8
7	11.395	2.92	3,3'-iminobispropilamin	$C_6H_{17}N_3$
8	17.609	3.02	N-metilbutan-1-amin	$C_5H_{13}N$
9	18.096	4.24	(2,3,4,5-tetrahidroksi-2,4-siklopentadien-1-on) ferum trikarbonil	$C_5H_4O_5.Fe(CO_3)$
10	18.128	8.31	(2,3,4,5-tetrahidroksi-2,4-siklopentadien-1-on) ferum trikarbonil	$C_5H_4O_5.Fe(CO_3)$
11	18.181	15.3	(2,3,4,5-tetrahidroksi-2,4-siklopentadien-1-on) ferum trikarbonil	$C_5H_4O_5.Fe(CO_3)$
12	23.882	3.44	(2,3,4,5-tetrahidroksi-2,4-siklopentadien-1-on) ferum trikarbonil	$C_5H_4O_5.Fe(CO_3)$

13	24.225	2.71	(2,3,4,5-tetrahidroksi-2,4-siklopentadien-1-on) ferum trikarbonil	$C_5H_4O_5.Fe(CO_3)$
14	26.431	2.08	1-metildodesilamin	$C_{13}H_{29}N$

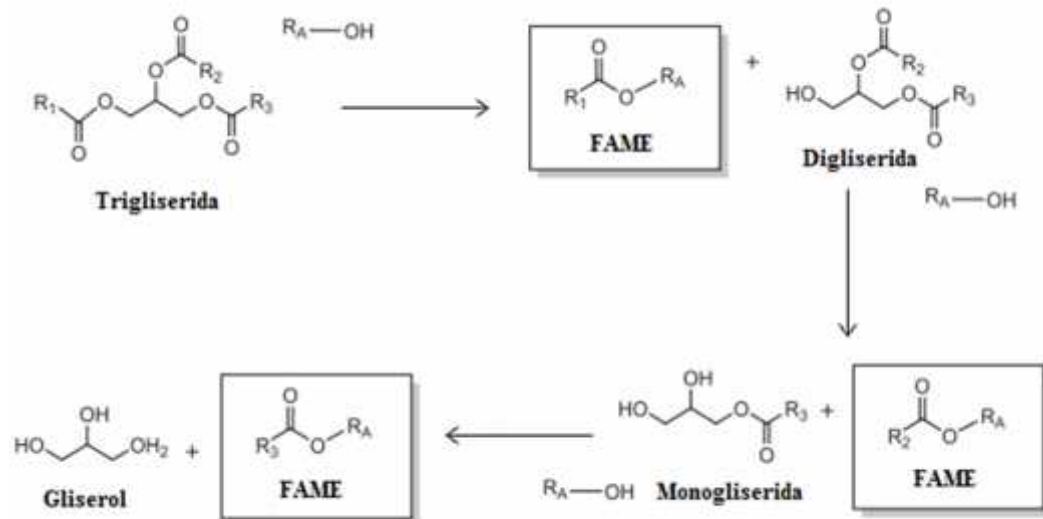
Dari **Tabel 4.4**, terdapat 14 komponen kimia yang terdeteksi pada kromatogram ekstrak Sokletasi. Berdasarkan rumus molekulnya, dapat diasumsikan bahwa 14 komponen kimia tersebut bersifat non polar karena hampir kesemuanya hanya tersusun dari unsur C dan H. Asumsi ini bersesuaian dengan sifat non polar dari pelarut *n*-heksan yang digunakan. Pada kromatogram ekstrak Bligh Dyer, jumlah komponen kimia yang terdeteksi jauh lebih sedikit yaitu 4, rumus molekulnya ditampilkan pada **Tabel 4.5**. Sementara pada ekstrak DME, jumlah komponen kimia yang terdeteksi adalah 10. Berdasarkan rumus-rumus molekul pada **Tabel 4.6**, adapun senyawa-senyawa yang tereskrak adalah senyawa yang memiliki gugus amina (RNH_2), gugus aldehyd ($RCHO$), gugus keton ($RCOR$), senyawa heterosiklik (piperidina) dan senyawa kompleks yang mengandung unsur Si dan Fe. Dengan demikian, dapat diasumsikan bahwa DME memiliki kemampuan dalam mengestrak senyawa-senyawa bioaktif/fitokimia yang umumnya dicirikan oleh gugus-gugus fungsi. Sehingga DME dapat digunakan sebagai pelarut untuk mengisolasi senyawa bioaktif dari bahan alam.

4.4 Tahap Sintesis Biodiesel (FAME)

Lipid dari mikroalga dikonversi menjadi biodiesel menggunakan metode metanol superkritis. Metode ini hanya melibatkan 1 tahap. Berbeda dengan metode berkatalis yang melibatkan 2 tahap. Masing-masing tahap menggunakan katalis yang berbeda, yaitu katalis asam pada tahap reaksi esterifikasi sementara katalis basa pada tahap reaksi transesterifikasi. Metode tersebut memiliki beberapa kekurangan antara lain diperlukan tahap/proses lanjutan untuk memisahkan kembali katalisnya. Sedangkan kehadiran katalis asam dan basa memungkinkan terjadinya reaksi hidrolisis dan saponifikasi. Berbeda pada metode metanol superkritis, kedua reaksi tersebut tidak akan terjadi sehinggakan dapat meningkatkan *yield* dari biodiesel.

Suhu kritis dan tekanan kritis bagi metanol adalah 239.2°C dan 8.09 MPa masing-masing. Pada kondisi superkritis, suhu dan tekanan metanol lebih besar berbanding pada titik kritis. Reaksi sintesis dilakukan dalam reaktor *batch*, dengan volume yang tetap. Jadi, peningkatan suhu berbanding lurus dengan peningkatan tekanan. Pada suhu 290°C, diperkirakan tekanan dalam reaktor adalah sekitar 16.55 MPa (di atas tekanan kritis metanol 8.09 MPa). Pada keadaan superkritis, molekul-molekul metanol akan memiliki energi yang lebih besar, sehingga bergerak dengan lebih cepat. Perilaku gerak molekul ini menyebabkan proses tumbukan terhadap baik dinding reaktor maupun terhadap sesama molekul metanol turut bertambah. Pada kondisi tersebut, terjadinya penurunan kekuatan ikatan hidrogen antar molekul metanol sekaligus menurunkan kepolarannya. Sehingga dapat melarutkan lipid. Berbeda pada suhu ruangan dan tekanan atmosfer, metanol bersifat polar sedangkan lipid bersifat non polar. Perbedaan kepolaran ini mengakibatkan keduanya berada pada 2 fase yang tidak saling larut. Dengan demikian, metanol dan lipid tidak dapat bereaksi pada kondisi biasa. Reaksi esterifikasi dan transesterifikasi dapat terjadi secara bersamaan pada kondisi ini.

Mekanisme reaksi esterifikasi dan transesterifikasi (Farobie dan Matsumura, 2017; Kusdiana dan Saka, 2001) dapat dilihat pada **Gambar 4.16**. Pada reaksi esterifikasi, gugus hidroksil (OH) pada metanol dapat bertindak sebagai nukleofilik untuk mengadisi karbon karbonil pada asam lemak bebas untuk menghasilkan biodiesel (FAME) dan air. Pada reaksi transesterifikasi, gugus hidroksil (OH) pada metanol mengadisi salah satu karbon karbonil dari TAG untuk menghasilkan FAME dan DAG. Dengan mekanisme yang serupa metanol lanjut bereaksi dengan DAG/MAG untuk membentuk FAME dan gliserol.

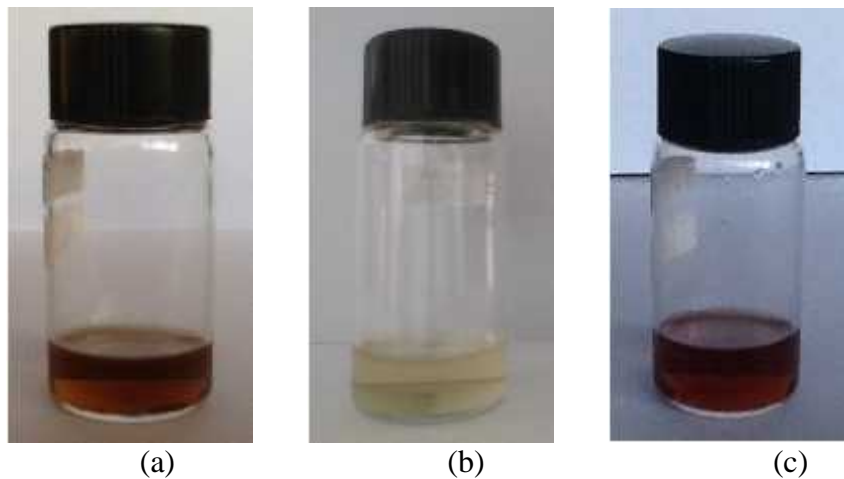


Reaksi Transesterifikasi

$$R_A = \text{CH}_3$$

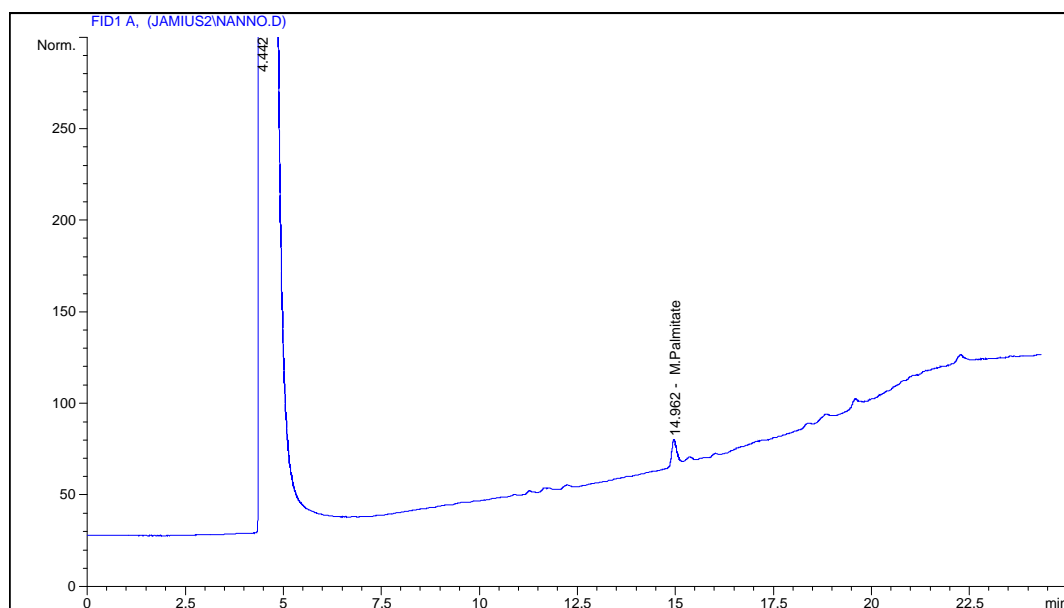
Gambar 4.16 Reaksi Sintesis Biodiesel

Biodiesel yang diperoleh berwarna kuning kemerahan seperti terlihat pada **Gambar 4.17**. Kromatogram GC untuk FAME (biodiesel) dari masing-masing spesies mikroalga ditunjukkan pada ketiga gambar di bawah. Teramati hanya 2 *peak* yaitu asam palmitat dan asam palmitoleat (Hasil kromatogram kurang bagus, disebabkan keterbatasan larutan standard). Komposisi biodiesel yang baik

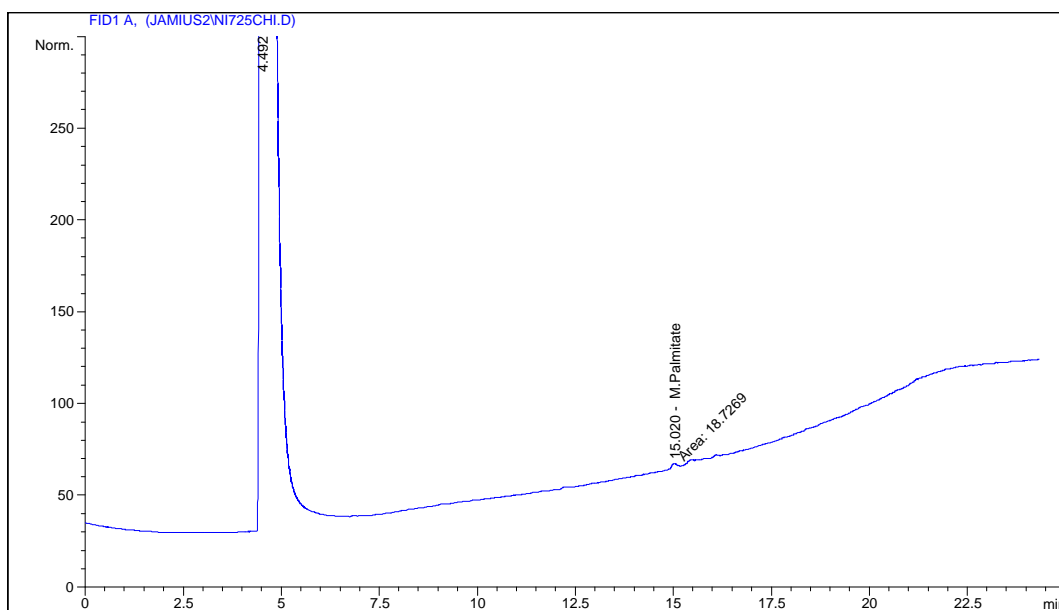


Gambar 4.17 Biodiesel dari (a) *N. oculata*, (b) *Nitzschia* sp. dan (c) *C. calcitrans*

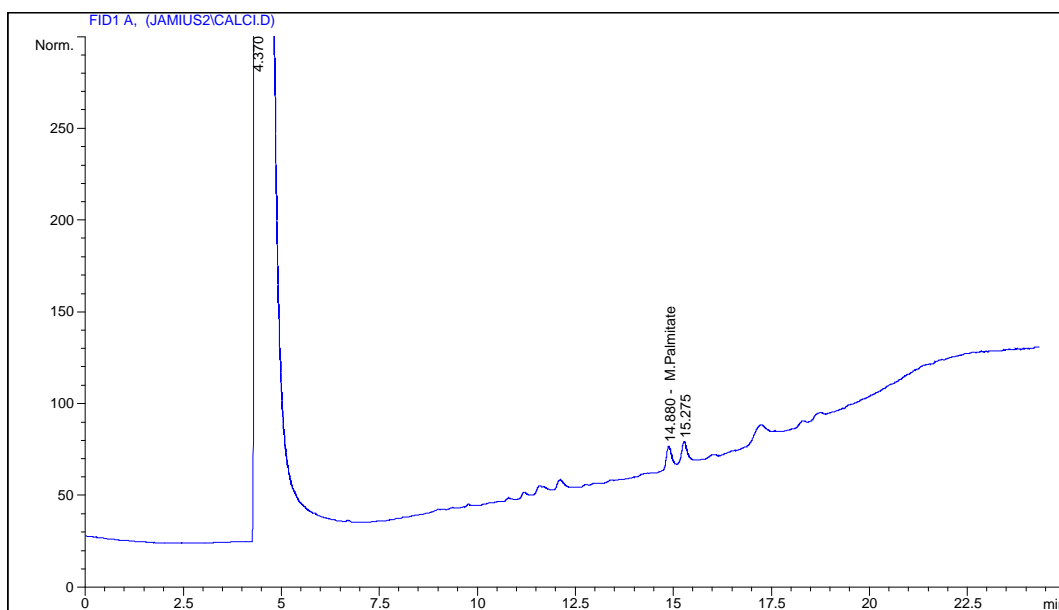
memiliki kandungan asam lemak C16 hingga C18 yang tinggi, termasuk C16:0 (asam palmitat), C18:0 (asam stearat), C18:1 (asam oleat), C18:2 (asam linoleat) dan C18:3 (asam α -linoleat) (Knothe, 2009).



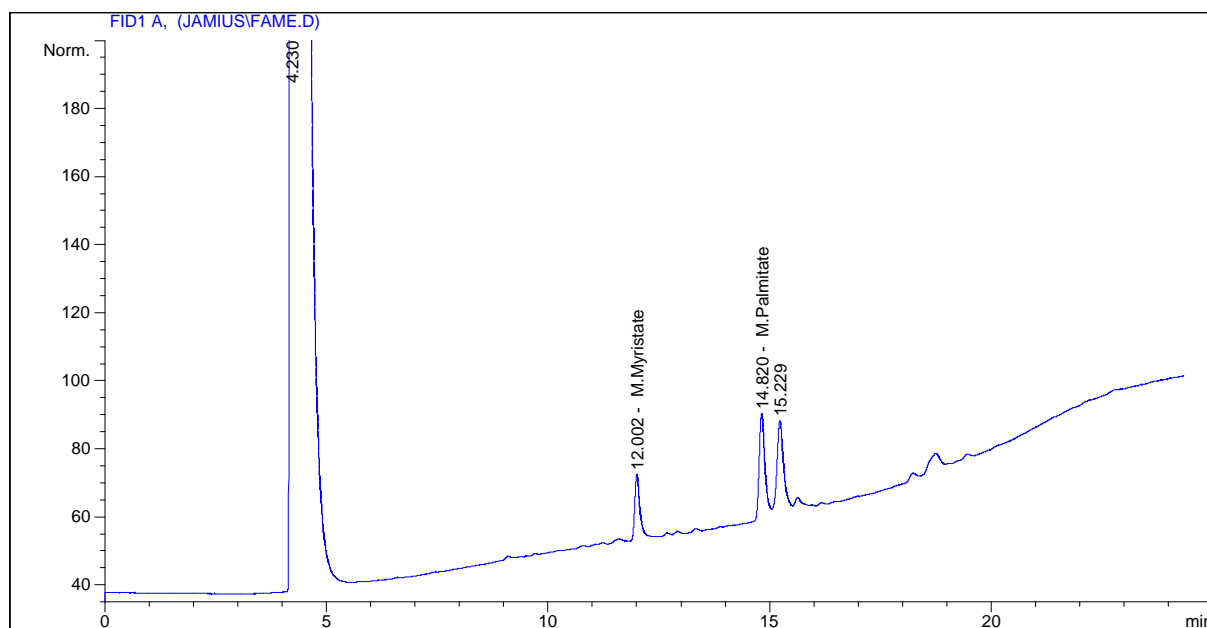
Gambar 4.18 Kromatogram GC - Biodiesel dari Ekstrak *N. oculata* (5x Ekstraksi, DME=100g, Suhu 40°C)



Gambar 4.19 Kromatogram GC - Biodiesel dari Ekstrak *Nitzschia* sp. (5x Ekstraksi, DME=100g, Suhu 40°C)



Gambar 4.20 Kromatogram GC - Biodiesel dari Ekstrak *C. calcitrans* (5x Ekstraksi, DME=100g, Suhu 40°C)

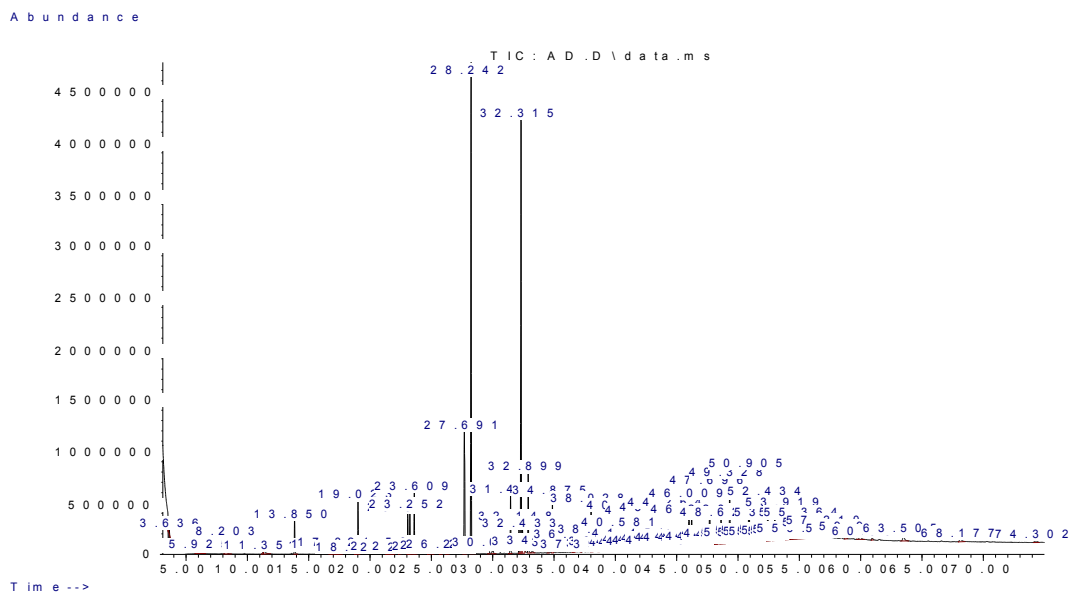


Gambar 4.21 Kromatogram GC - Biodiesel dari Ekstrak *C. calcitrans* (1x Ekstraksi, DME=100g, Suhu 40°C)

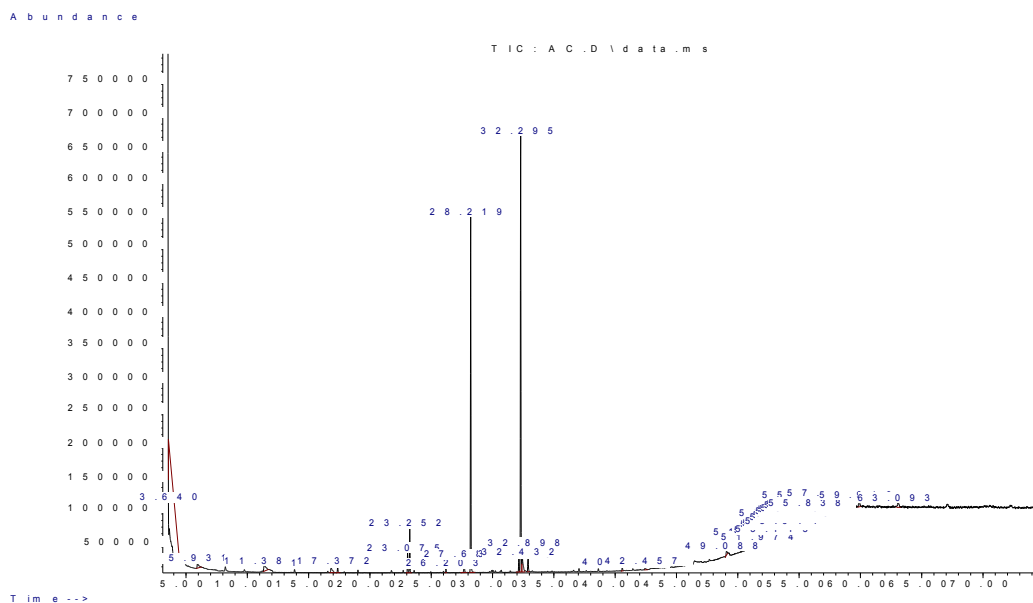
Tabel 4.7 Hasil GC – Biodiesel dari Ekstrak *C. calcitrans* (DME=100g, Suhu 40°C)

No.	Waktu retensi (min)	Amount (mg/L)	Persen (%)	FAME
1	12.002	283.98974	31.4	Metil miristat
2	14.820	620.37224	68.6	Metil palmitat
3	15.229	-	-	-

Gambar 4.21 memperlihatkan kromatogram FAME yang didapatkan dari ekstrak *C. calcitrans* dengan cara metode ekstraksi DME untuk 1 kali ekstraksi. Hasil kromatogramnya lebih baik jika dibandingkan pada kromatogram **Gambar 4.20** dari spesies yang sama. Selain bentuk *peak* yang lebih bagus, terlihat juga ada 1 *peak* lain yaitu asam miristat (C14:0).



Gambar 4.22 Kromatogram GCMS - Ekstrak Sokletasi dari *Nitzschia* sp. (Analisa di Jepang)



Gambar 4.23 Kromatogram GCMS - Ekstrak Bligh Dyer dari *Nitzschia* sp. (Analisa di Jepang)

Gambar 4.22 dan **Gambar 4. 23** adalah kromatogram FAME dari spesies *Nitzschia* sp. untuk masing-masing metode ekstraksi Sokletasi dan Bligh Dyer. (Analisa GCMS yang sempat dilakukan di Jepang). Terlihat ada perbedaan mencolok dengan kromatogram sebelumnya. Pada **Gambar 4.22**, *peak* tertinggi adalah asam palmitat (C16:0), diikuti oleh *peak* untuk asam linoleat (C18:2). Sementara pada **Gambar 4.23**, *peak* tertinggi dan kedua tertinggi adalah masing-masing untuk asam oleat (C18:1) dan asam palmitat (C16:0).

(Halaman ini sengaja dikosongkan)

BAB 5

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian ini, dapat disimpulkan :

1. *Yield* ekstrak basah ketiga spesies mikroalga meningkat dengan bertambahnya jumlah DME dari 20-100g. *Yield* : *N. oculata* (dari 24.69% ke 73.92%); *Nitzschia* sp. (dari 19.02% ke 73.87%); *C. calcitrans* (dari 13.84% ke 64.42%). Namun, *yield* ekstrak kering tidak dipengaruhi oleh jumlah DME. Berikut adalah *yield* ekstrak kering tertinggi: *N. oculata* (2.01% dengan 100g DME); *Nitzschia* sp. (2.02% dengan 60g DME); *C. calcitrans* (2.22% dengan 80g DME).
2. *Yield* ekstrak basah ketiga spesies mikroalga meningkat dengan bertambahnya suhu dari 30-40°C. *Yield* : *N. oculata* (dari 63.49% ke 77.24%); *Nitzschia* sp. (dari 65.08% ke 75.47%); *C. calcitrans* (dari 54.37% ke 66.38%). Tetapi, *yield* ekstrak kering tidak dipengaruhi oleh suhu. *Yield* ekstrak kering tertinggi adalah: *N. oculata* (2.79% pada suhu 30°C); *Nitzschia* sp. (3.32% pada suhu 40°C); *C. calcitrans* (3.55% pada suhu 30°C).
3. Perbandingan *yield* ekstrak dari ketiga metode ekstraksi untuk setiap spesies mikroalga adalah seperti berikut, diurut mulai dari *yield* tertinggi: *N. oculata*; 6.25%(Bligh Dyer), 3.01%(Sokletasi), 2.79%(100g DME, suhu 30°C); *Nitzschia* sp.; 7.74%(Bligh Dyer), 3.32%(100g DME, suhu 40°C), 2.79%(Sokletasi); *C. calcitrans*; 10.58%(Bligh Dyer), 3.55%(100g DME, suhu 30°C), 0.69%(Sokletasi). Untuk perbandingan *yield* lipid adalah seperti berikut: *N. oculata*; 2.21% (Bligh Dyer), 1.81% (Sokletasi), 1.19% (DME); *Nitzschia* sp.; 2.10% (Bligh Dyer), 1.12% (DME), 0.96% (Sokletasi); *C. calcitrans*; 5.07% (Bligh Dyer), 0.87% (DME), 0.44% (Sokletasi).
4. Biodiesel yang diperoleh menggunakan metode ekstraksi DME mengandung C16:0 (asam palmitat) dan C16:1 (asam palmitoleat) untuk spesies mikroalga *N. oculata*, *Nitzschia* sp. dan *C. calcitrans*.

5.2 Saran

Saran-saran yang diusulkan dalam penelitian ini adalah :

1. Sentrifugasi pada mikroalga basah dilakukan beberapa kali untuk mengurangi kandungan air dan meningkatkan jumlah biomassa mikrolga.
2. Jumlah mikrolaga basah yang digunakan dalam metode ekstraksi DME dapat ditambah menjadi 8 g. Semakin bertambah jumlah sampel semakin meningkatkan probabilitas mengesktrak lipid.
3. Menggunakan *co-solvent* seperti etanol untuk meningkatkan kemampuan mengestrak lipid dari mikrolaga. Etanol memiliki gugus hidroksil untuk membentuk ikatan hidrogen dengan molekul air sedangkan gugus etilnya dapat berinteraksi dengan lipid.

DAFTAR PUSTAKA

- AlgaeBase. (2017a). Taxonomy Browser, Genus: Chaetoceros. Retrieved February 18, 2017, from <http://www.algaebase.org>
- AlgaeBase. (2017b). Taxonomy Browser, Genus: Nannochloropsis. Retrieved February 18, 2017, from <http://www.algaebase.org>
- AlgaeBase. (2017c). Taxonomy Browser, Genus: Nitzschia. Retrieved February 18, 2017, from <http://www.algaebase.org>
- Aparamarta, H. W., Saputra, T., Claratika, A., Ju, Y., & Gunawan, S. (2016). Separation and Purification of Triacylglycerols from Nyamplung (*Calophyllum inophyllum*) Oil by Batchwise Solvent Extraction. <https://doi.org/10.1021/acs.iecr.5b04877>
- Astuti, J., & Sriwuryandari, L. (2010). Biodiesel dari Mikroalga : Perbanyakkan Biomassa melalui Penambahan Nutrisi secara Bertahap. *Jurnal Ilmu-Ilmu Hayati Dan Fisik*, 12(3), 160–168.
- Astuti, J., Sriwuryandari, L., & Sembiring, T. (2011). Pengaruh Penambahan Mg²⁺ terhadap Produktifitas dan Komposisi Lemak Mikroalga *Scenedemus* Sebagai Bahan Biodiesel. *Jurnal Riset Industri*, V(3), 265–274.
- Banerjee, S., Hew, W. E., Khatoon, H., & Shariff, M. (2011). Growth and proximate composition of tropical marine *Chaetoceros calcitrans* and *Nannochloropsis oculata* cultured outdoors and under laboratory conditions, 10(8), 1375–1383. <https://doi.org/10.5897/AJB10.1748>
- Behrens, P. W., & Kyle, D. J. (1996). Microalgae as a Source of Fatty Acids. *Journal of Food Lipids* 3, 259–272.
- Bettelheim, F. A., Brown, W. H., Campbell, M. K., Farrell, S. O., & Torres, O. J. (2010). *Introduction to Organic and Biochemistry* (Eight Edit). Brooks/Cole Cengage Learning.
- BGSU. (2018). *Nitzschia* sp. Retrieved from <https://www.bgsu.edu/arts-and-sciences/biological-sciences/facilities-and-resources/algal-microscopy-laboratory/image-archive/scanning-electron-micrographs.html>
- Boonnoun, P., Kurita, Y., Kamo, Y., Wahyudiono, Macmudah, S., Okita, Y.,

- Goto, M. (2014). Wet Extraction of Lipids and Astaxanthin from *Haematococcus pluvialis* by Liquefied Dimethyl Ether. *Journal of Nutrition & Food Sciences*, 4(5). <https://doi.org/10.4172/2155-9600.1000305>
- BPPT. (2015). *Outlook Energi Indonesia 2015: Pengembangan Energi Untuk Mendukung Energi Berkelanjutan*. (A. Sugiyono, Anindhita, L. M. A. Wahid, & Adiarso, Eds.). Jakarta: Pusat Teknologi Sumber Daya Energi dan Industri Kimia: Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi (BPPT).
- BPPT. (2016). *Outlook Energi Indonesia 2016: Pengembangan Energi untuk Mendukung Industri Hijau*. (A. Sugiyono, Anindhita, L. M. A. Wahid, & Adiarso, Eds.). Jakarta: Pusat Teknologi Sumber Daya Energi dan Industri Kimia: Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi (BPPT).
- Brown, H., & Wynne, M. (1997). *Introduction to the Algae* (Second). New York: Prectice-Hall Mc. Engelwood Cliffs.
- Brown, W. H., Foote, C. S., Iverson, B. L., & Anslyn, E. V. (2009). *Organic Chemistry* (Fifth). Brooks/Cole Cengage Learning.
- Chaetoceros, U., & Napolitano, E. (1990). Fatty Acid Composition of Three Cultured Algal Species s e d as Food for Bivalve Larvae, 21(2), 122–130.
- Cheremisinoff, N. P. (2003). *Industrial Solvents Handbook* (Second Edi). New York: Marcel Dekker, Inc.
- Chisti, Y. (2007). Biodiesel from microalgae beats bioethanol. *Trends in Biotechnology*, 26(3), 126–131. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2007.12.002>
- Darzins, A., Pienkos, P., & Edye, L. (2010). Current status and potential for algal biofuels production. *National Renewable Energy Laboratory NREL A Report to Bioenergy Task 39, Report T39*(August), 146. Retrieved from <http://www.globalbioenergy.org/uploads/media/1008 IEA Bioenergy - Current status and potential for algal biofuels production.pdf>
- EFSA. (2015). Scientific Opinion on the safety of use of dimethyl ether as an extraction solvent under the intended conditions of use and the proposed maximum residual limits. *EFSA Journal*, 13(7), 4174. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2015.4174>
- Eltringham, W., & Catchpole, O. J. (2007). Relative permittivity measurements of gaseous, liquid, and supercritical dimethyl ether. *Journal of Chemical and*

- Engineering Data*, 52(2), 363–367. <https://doi.org/10.1021/je060283w>
- Farobie, O., & Matsumura, Y. (2017). State of the art of biodiesel production under supercritical conditions, 63. <https://doi.org/10.1016/j.pecs.2017.08.001>
- Gadonneix, P., Nadeau, M.-J., Kim, Y. D., Birnbaum, L., Cho, H., & Sambo, A. (2013). *World Energy Resources*. World Energy Council. Retrieved from www.worldenergy.com
- GenePoolConservation. (2018). Marine microalgae *Chaetoceros calcitrans*. Retrieved from <http://gca.riah1.org/News.aspx?ctl=speciesdetail&mID=1&sID=115&pr=&top=23&LangID=1>
- Goto, M., Kanda, H., Wahyudiono, & Machmudah, S. (2015). Extraction of carotenoids and lipids from algae by supercritical CO₂ and subcritical dimethyl ether. *Journal of Supercritical Fluids*, 96(January), 245–251. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2014.10.003>
- Gouveia, L., & Oliveira, A. C. (2009). Microalgae as a raw material for biofuels production. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 36(2), 269–274. <https://doi.org/10.1007/s10295-008-0495-6>
- Hoek, C., Mann, D., & Jahns, H. (1995). *Algae, an introduction to phycology*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Holldorff, H., & Knapp, H. (1988). Binary vapor-liquid-liquid equilibrium of dimethyl ether-water and mutual solubilities of methyl chloride and water: experimental results and data reduction. *Fluid Phase Equilibria*, 44, 195–209. [https://doi.org/10.1016/0378-3812\(88\)80111-0](https://doi.org/10.1016/0378-3812(88)80111-0)
- Hoshino, R., Machmudah, S., Kanda, H., & Goto, M. (2014). Simultaneous Extraction of Water and Essential Oils from Citrus Leaves and Peels Using Liquefied Dimethyl Ether. *Journal of Nutrition and Food*, 4(5). <https://doi.org/10.4172/2155-9600.1000301>
- Kanda, H., Kamo, Y., Machmudah, S., Wahyudiono, & Goto, M. (2014). Extraction of fucoxanthin from raw macroalgae excluding drying and cell wall disruption by liquefied dimethyl ether. *Marine Drugs*, 12(5), 2383–2396. <https://doi.org/10.3390/md12052383>
- Kanda, H., & Makino, H. (2010). Energy-efficient coal dewatering using liquefied

- dimethyl ether. *Fuel*, 89(8), 2104–2109. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2010.02.019>
- Kanda, H., & Li, P. (2011). Simple Extraction Method of Green Crude from Natural Blue-Green Microalgae by Dimethyl Ether: Extraction Efficiency on Several Species Compared to the Bligh-Dyer's Method, (October), 530–536. <https://doi.org/10.3384/ecp11057530>
- Kanda, H., Li, P., Goto, M., & Makino, H. (2015). Energy-saving lipid extraction from wet *Euglena gracilis* by the low-boiling-point solvent dimethyl ether. *Energies*, 8(1), 610–620. <https://doi.org/10.3390/en8010610>
- Knothe, G. (2009). Improving biodiesel fuel properties by modifying fatty ester composition †, 759–766. <https://doi.org/10.1039/b903941d>
- Kusdiana, D., & Saka, S. (2001). Methyl Esterification of Free Fatty Acids of Rapeseed Oil as Treated in Supercritical Methanol, 34(3), 383–387.
- Ma, X., Chen, T., Yang, B., Liu, J., & Chen, F. (2016). Lipid Production from *Nannochloropsis*, (3). <https://doi.org/10.3390/md14040061>
- Ma, Y., Wang, Z., Yu, C., Yin, Y., & Zhou, G. (2014). Evaluation of the potential of 9 *Nannochloropsis* strains for biodiesel production. *BIORESOURCE TECHNOLOGY*. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.06.047>
- Mcmurry, J. (2008). *Organic Chemistry* (Seventh Ed). Thomson Learning Inc.
- Meher, L. C., Vidya Sagar, D., & Naik, S. N. (2006). Technical aspects of biodiesel production by transesterification - A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 10(3), 248–268. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2004.09.002>
- Miao, X., & Wu, Q. (2006). Biodiesel production from heterotrophic microalgal oil. *Bioresource Technology*, 97(6), 841–846. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2005.04.008>
- Millán-oropeza, A., & Fernández-linares, L. (2016). Biomass and lipid production from *Nannochloropsis oculata* growth in raceway ponds operated in sequential batch mode under greenhouse conditions. *Environmental Science and Pollution Research*. <https://doi.org/10.1007/s11356-016-7013-6>
- Miller, M. R., Quek, S., Staehler, K., Nalder, T., & Packer, M. A. (2012).


- Changes in oil content , lipid class and fatty acid composition of the microalga *Chaetoceros calcitrans* over different phases of batch culture, 1–14. <https://doi.org/10.1111/are.12107>
- Nerome, H., Hoshino, R., Ito, S., Esaki, R., Eto, Y., Wakiyama, S., Mishima, K. (2016). Functional ingredients extraction from *Garcinia mangostana* pericarp by liquefied dimethyl ether. *Engineering Journal*, 20(4), 155–162. <https://doi.org/10.4186/ej.2016.20.4.155>
- Noriyasu, A., Furukawa, H., Kikuchi, A., Takaichi, H., Bouteau, F., Li, X., Kawano, T. (2015). Use of liquefied cold temperature dimethyl ether for extraction of pigments from fresh vegetable tissues. *Advances in Horticultural Science*, 29(1), 48–52.
- Panggabean, M. G. ., Sutomo, Noerdjito, D., & Afdal. (2010). *Mikroalga Laut sebagai Produsen Biodiesel ; Laporan Akhir Program Insentif Peneliti dan Perekayasa*. Jakarta.
- PlanktonNet. (2018). *Chaetoceros calcitrans*. Retrieved from http://planktonnet.awi.de/index.php?contenttype=image_details&itemid=59853#content
- Prartono, T., Kawaroe, M., Sari, D. W., & Augustine, D. (2010). Fatty Acid Content of Indonesian Aquatic Microalgae. *HAYATI Journal of Biosciences*, 17(4), 196–200. <https://doi.org/10.4308/hjb.17.4.196>
- Pratoomyot, J., Srivilas, P., & Noiraksar, T. (2005). Fatty acids composition of 10 microalgal species. *Songklanakarin J. Sci. Technol.*, 27(March), 1179–1187.
- ProtistImages. (2018). *Nitzschia* sp. Retrieved from http://protist.i.hosei.ac.jp/PDB/Images/Heterokontophyta/Raphidineae/Nitzschia/sp_5.html
- Rai, M. P., Gautam, T., & Sharma, N. (2015). Effect of Salinity, pH, Light Intensity on Growth and Lipid Production of Microalgae for Bioenergy Application. *OnLine Journal of Biological Sciences*. <https://doi.org/10.3844/ojbsci.2015.260.267>
- Ruangsomboon, S. (2012). Effect of light, nutrient, cultivation time and salinity on lipid production of newly isolated strain of the green microalga, *Botryococcus braunii* KMITL 2. *Bioresource Technology*, 109, 261–265.

<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.07.025>




- Sharma, R., Chisti, Y., Chand, U., & Banerjee, U. C. (2001). Production, Purification, Characterization, and Applications of Lipases. *Biotechnology Advances*, 19(8), 627–662. [https://doi.org/10.1016/S0734-9750\(01\)00086-6](https://doi.org/10.1016/S0734-9750(01)00086-6)
- Suh, S., Kim, S. J., Hwang, J., Park, M., Lee, T., Kil, E., & Lee, S. (2015). Fatty acid methyl ester profiles and nutritive values of 20 marine microalgae in Korea. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 8(3), 191–196. [https://doi.org/10.1016/S1995-7645\(14\)60313-8](https://doi.org/10.1016/S1995-7645(14)60313-8)
- ThalgaLaBeauteMarine. (2018). Nannochloropsis oculata. Retrieved from <http://www.thalga.in/algues/index.0-n.html>
- Tumuluru, J. S., Sokhansanj, S., Wright, C. T., Boardman, R. D., & Yancey, N. a. (2011). A review on biomass classification and composition, co-firing issues and pretreatment methods. *Biofuels Bioproducts and Biorefining*, 5(February 2017), 683–707. <https://doi.org/10.1002/bbb.324>
- Umdu, E. S., Tuncer, M., & Seker, E. (2009). Transesterification of Nannochloropsis oculata microalga's lipid to biodiesel on Al₂O₃ supported CaO and MgO catalysts. *Bioresource Technology*, 100(11), 2828–2831. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.12.027>
- Varlet, V., Smith, F., & Augsburger, M. (2014). New trends in the kitchen: Propellants assessment of edible food aerosol sprays used on food. *Food Chemistry*, 142, 311–317. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.07.036>
- Wagner, L. (2010). Biodiesel from Algae. *Green Energy and Technology*, 36(July), 139–157. <https://doi.org/10.1007/978-1-84996-050-2>
- Wu, J., Zhou, Y., Lemmon, E. W., & Al., E. (2011). An Equation of State for the Thermodynamic Properties of Dimethyl Ether. *Journal of Physical and Chemical Reference Data*, 40(2). <https://doi.org/10.1063/1.3582533>

LAMPIRAN




Sampel mikroalga basah :

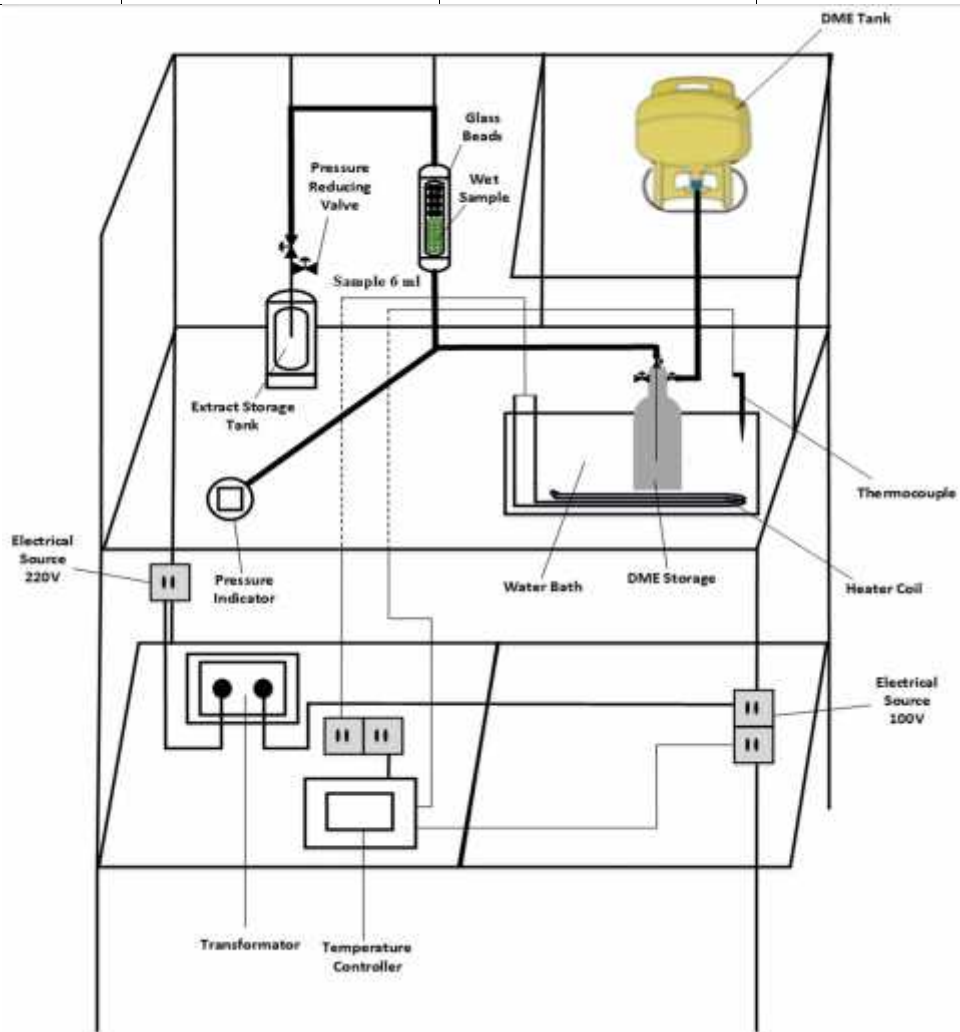
	<i>N. oculata</i>	<i>Nitzschia</i> sp.	<i>C. calcitrans</i>
Warna sampel mikroalga basah	 <p style="text-align: center;">Hijau</p>	 <p style="text-align: center;">Coklat pudar</p>	 <p style="text-align: center;">Kuning kehitaman</p>

Hasil ekstraksi Sokletasi :

	<i>N. oculata</i>	<i>Nitzschia</i> sp.	<i>C. calcitrans</i>
Warna ekstrak	 <p style="text-align: center;">Hijau kehitaman</p>	 <p style="text-align: center;">Oranye</p>	 <p style="text-align: center;">Kuning kehitaman</p>

Hasil ekstraksi Bligh Dyer :

	<i>N. oculata</i>	<i>Nitzschia</i> sp.	<i>C. calcitrans</i>
Warna ekstrak	 Hijau kehitaman	 Coklat pudar	 Kuning kehitaman



Rangkaian Alat Metode Ekstraksi DME

Spesifikasi Alat Metode Ekstraksi DME

1. DME *tank*

DME *tank* merupakan tabung LPG 3 kg yang dimodifikasi. Berat kosong DME *tank* 5 kg. DME *tank* yang berisi *liquefied* (cairan) DME (99.9%) diperoleh langsung dari PT. Bumi Tangerang Gas Industry. Berat maksimum DME *tank* yang terisi dengan *liquefied* DME adalah 8 kg. *Liquefied* DME berupa cairan bening, memiliki bau khas dan tekanan sebesar 0.61 MPa.

2. DME *storage*

DME *storage* (tipe SUS 316) terbuat dari *stainless steel* dan diperoleh dari Taiatsu Techno Corp., Japan. DME *storage* berfungsi sebagai tempat penyimpanan cairan DME sebelum dialirkan ke ekstraktor. Berat kosong DME *storage* (tanpa disambungkan dengan *valve*) 2014.48 g, bagian dalamnya nyaris berbentuk tabung reaksi dengan diameter dalam 4 cm dan tinggi ± 19 cm. Terdapat *sifon* (*sifon* terhubung langsung dengan *valve*) dengan panjang ± 20 cm. Volume maksimal $\pm 238.11 \text{ cm}^3$ (Pengukuran volume menggunakan air pada suhu ruangan). Suhu dan tekanan maksimal 200°C dan 10 MPa masing-masing.

3. *Waterbath*

Waterbath digunakan sebagai wadah pemanas air. *Waterbath* terbuat dari *acrylic* (ketebalan = 0.5 cm) berukuran 44 cm x 20.5 cm x 20 cm.

4. *Heater*

Heater dihubungkan ke *temperature controller*, digunakan sebagai alat pemanas air. *Heater* ini memiliki tegangan sebesar 100V

5. *Temperature Controller* dan *Thermocouple*

Kedua alat ini berfungsi untuk mengatur dan menjaga suhu agar sesuai dengan *set point*.

6. Ekstraktor

Ekstraktor (tipe HPG-10-5) terbuat dari kaca yang dilapisi dengan polikarbonat, diperoleh dari Taiatsu Techno Corp, Jepang. Panjang keseluruhan ekstraktor 19 cm. Panjang ekstraktor (dari skala 0-5-10) 9.6 cm. Diameter dalam dan luar pada ujung ekstraktor masing-masing 0.7 cm

dan 1.1 cm Diameter luar pada bagian tengah ekstraktor 1.8 cm. Volume total ekstraktor $\pm 15 \text{ cm}^3$. Volume (dari skala 0-5-10) $\pm 10 \text{ cm}^3$. Tekanan maksimal 5 MPa.

7. *Extraction Storage Tank*

Extraction storage tank (tipe HPG-96-3) terbuat dari kaca yang dilapisi dengan polikarbonat, diperoleh dari Taiatsu Techno Corp, Jepang. Berbentuk seperti tabung reaksi. Diameter dalam dan luar masing-masing 2.6 cm dan 3.5 cm, dengan panjang 17.4 cm. Volume total 96 cm^3 . Tekanan maksimal 2 MPa. Alat ini berfungsi sebagai tempat penampung ekstrak dan tempat pemisahan pelarut DME dengan ekstrak.

8. *Reducing Pressure Valve*

Reducing pressure valve berfungsi untuk memisahkan DME dari hasil ekstrak dalam *extraction storage tank*. Alat ini akan menurunkan tekanan sehingga DME akan berubah dari fase cair menjadi fase gas, kemudian teruap ke udara.



DME Storage






Extraction Storage Tank



Ekstraktor

Hasil ekstraksi DME :

Variabel suhu (Jumlah DME tetap, 100g)

	Suhu (°C)				
	20	40	60	80	100
<i>N. oculata</i>					
<i>Nitzschia</i> sp.					
<i>C. calcitrans</i>					

BIOGRAFI PENULIS



Jamius Bin Stepanus, lahir di Kota-Kinabalu, Sabah (Malaysia bagian timur) pada tanggal 20 Juli 1985. Penulis merupakan anak ketiga dari pasangan Stepanus Liliwana dan Hana Matius. Penulis memulai pendidikan formalnya di Tadika Yue Min Penampang, Sabah tahun 1991. Kemudian melanjutkan pendidikan SD di Sekolah Rendah Jenis Kebangsaan Yick Nam Inanam,

Sabah (1992-1997). Berikutnya, penulis menempuh pendidikan SMP dan SMA di Sekolah Menengah Kebangsaan Likas, Sabah (1998-2002), dilanjutkan dengan pendidikan Tingkatan Enam (6) dalam bidang sains di Sekolah Menengah All Saints Likas, Sabah (2002-2004). Penulis memperoleh gelar strata 1 (S1) dari jurusan Kimia FMIPA Universitas Hasanuddin, Makassar (2006-2012). Penulis pernah bergabung dengan tim peneliti Kimia Organik Jurusan Kimia yang meneliti potensi bahan alam sebagai senyawa bioaktif. Kemudian melanjutkan strata 2 (S2) di jurusan Teknik Kimia, Institut Teknologi Sepuluh Nopember (2016-2018). Di bawah bimbingan Prof. Dr. Ir. Sugeng Winardi, M.Eng dan Dr. Siti Machmudah, ST., M.Eng, penulis telah menyusun tesis dengan judul “Biodiesel dari Lipid yang Diekstrak pada Mikroalga Basah Menggunakan Metode Ekstraksi Dimetil Eter” yang dilakukan di Laboratorium Mekanika Fluida dan Pencampuran.

Nama	: Jamius Bin Stepanus
Alamat	: Lembata, NTT
Telpon / WhatsApp	: 081241229300
Email	: jamiusstepanus@gmail.com